



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE  
MINAS GERAIS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS ALIADA A  
QUIMIOMETRIA PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE  
CAFÉ ROBUSTA, ARÁBICA E SEUS BLENDS**

**Sthéfany Ramos da Conceição**

**Belo Horizonte - MG  
2022**



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS ALIADA A  
QUIMIOMETRIA PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE  
CAFÉ ROBUSTA, ARÁBICA E SEUS BLENDS**

**Sthéfany Ramos da Conceição**

Monografia apresentada ao Curso de Química Tecnológica do CEFET-MG como parte das exigências da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II (TCCII).

**Orientador:** Prof. Dra. Júnia de Oliveira Alves Binatti

**Coorientador:** Prof. Dr. Ildefonso Binatti

**Banca Examinadora:**

**Dra. Júnia de Oliveira Alves Binatti (Orientadora)**

**Dr. Ildefonso Binatti (Coorientador)**

**Dr. Leonel da Silva Teixeira**

**Dra. Patrícia Sueli de Rezende**

**Monografia aprovada em 20 de janeiro de 2022.**

**Belo Horizonte - MG**

**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha família pelo amor, suporte e estímulo incondicional durante toda essa trajetória, sobretudo aos meus pais, Vilson e Valquíria, as minhas irmãs Rayssa e Emily, e ao meu marido Thales.

Agradeço a todos os professores que me orientaram e ensinaram até aqui e fizeram me apaixonar pela área. Em especial, aos meus orientadores pelo suporte e correções, no pouco tempo que nos coube.

Agradeço aos colegas de classe que me incentivaram e cooperaram fazendo com que todo processo fosse mais leve. Com carinho Clara, Vitória, Ana, Amorim, Marani, Gustavo e Sayminton.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATR-FTIR *Spectroscopy* - Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier
- BPFs - Boas práticas de fabricação
- CBP&D - Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café
- Conab - Companhia Nacional de Abastecimento
- CRM - modelo carga residual
- ESI(-)-MS – Espectro de massas com ionização por *electrospray* no modo negativo
- ESI(+)-MS – Espectro de massas com ionização por *electrospray* no modo positivo
- ESI-MS – Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray*
- Funcafé - Fundo de Defesa da Economia Cafeeira
- IEM - *Ion Evaporation Model* (Modelo de evaporação de íon)
- m/z – Razão massa/carga
- MS – *Mass Spectrometry* (Espectrometria de massas)
- CP - Componente principal (*do inglês Principal componente*)
- CP 1 – Primeira componente principal
- CP 2 – Segunda componente principal
- CP 3 – Terceira componente principal
- PCA – *Principal components analysis* (Análise de componentes principais)
- POPs - Procedimentos Operacionais Padronizados
- PQC - Programa de Qualidade do café da ABIC
- Resolução SAA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais estados produtores de café - 2020 .....	12
Figura 2 - Morfologia do grão de café .....	17
Figura 3 - Escala sensorial do café torrado e moído .....	23
Figura 4 - Esquema do espectrômetro de massa .....	24
Figura 5 - Esquema do espectro de massa .....	25
Figura 6 - Esquema de uma fonte por electrospray.....	26
Figura 7 - Decomposição da gotícula pelo mecanismo do Cone de Taylor .....	28
Figura 8 -Mecanismo de formação de íons.....	29
Figura 9 Esquema do ESI comparado a uma célula eletrolítica .....	29
Figura 10 - Pré-processamento de dados .....	33
Figura 11 - Representação da inserção de dados espectrais na matriz X .....	38
Figura 12 -ESI(+)- MS do café Arábica (12a) e Robusta (12b) puros. .	39
Figura 13 - ESI(-)-MS do café Arábica (11a) e Robusta (11b) puros. ..	41

## **LISTA DE FLUXOGRAMAS**

Fluxograma 1 - Processamento básico do café .....	14
---	----

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição química dos grãos de café Arábica e Robusta ..	21
Tabela 2 – Centralização dos dados na média.....	32
Tabela 3 - Identificação das amostras .....	37

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Legislações a respeito do café e derivados .....	5
Quadro 2 - Graus de Torra do Café .....	16
Quadro 3 - Características fisiológicas e organolépticas do café Arábica e Robusta .....	19
Quadro 4 - Sinais detectados no ESI(+)-MS para as amostra de café Arábica e Robusta pura .....	40
Quadro 5 - Sinais detectados no ESI(-)-MS para as amostra de café Arábica e Robusta pura .....	42

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Dez maiores países produtores de café no mundo em 2020/21 .....	9
Gráfico 2 - Os dez maiores países consumidores de café .....	9
Gráfico 3 - Produção total de café no Brasil em anos de bienalidade positiva e negativa .....	10
Gráfico 4 - Exportações de café entre 2016 e 2021 .....	12
Gráfico 5 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(+)-MS.....	43
Gráfico 6 - Resíduos Q versus <i>Hotelling T</i> <sup>2</sup> dos dados dos ESI(+)-MS..	44
Gráfico 7 - Modelo PCA construído com os dados ESI(+)-MS.....	45
Gráfico 8 - Escores na CP 2 x amostra, amostras pretas (% Robusta) e vermelhas (%vermelhas) .....	45
Gráfico 9 - <i>Loadings</i> em CP 2 dos dados do ESI(+)-MS- Amostras puras .....	46
Gráfico 10 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(-)-MS - Amostras puras .....	47
Gráfico 11 - Resíduos Q versus <i>Hotelling T</i> <sup>2</sup> dos dados dos ESI(-)-MS- Amostras puras.....	47
Gráfico 12 -Gráfico de escores, construído com as três primeiras componentes principais, obtidos a parti dos dados do ESI(-)-MS- Amostras puras.....	48
Gráfico 13 - Escores da componente principal 1 dos ESI(-)-MS- Amostras puras.....	49
Gráfico 14 - <i>Loadings</i> em CP 1 dos dados do ESI(-)-MS- Amostras puras .....	49
Gráfico 15 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(+)-MS das amostras adulteradas.....	50
Gráfico 16 - Resíduos Q versus <i>Hotelling T</i> <sup>2</sup> dos dados dos ESI(+)-MS das amostras adulteradas .....	51

Gráfico 17 - Gráfico de escores, construído com as duas primeiras componentes principais, obtidos a parti dos dados do ESI(+)-MS da amostras adulteradas .....	52
Gráfico 18 - <i>Loadings</i> da CP 1 dos dados do ESI(+) obtido a partir das amostrar adulteradas.....	52
Gráfico 19 - <i>Loadings</i> da CP 2 dos dados do ESI(+) obtido a partir das amostrar adulteradas.....	53
Gráfico 20 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(-)-MS – Amostras adulteradas.....	53
Gráfico 21 - Resíduos Q versus <i>Hotelling T<sup>2</sup></i> dos dados dos ESI(-)-MS– Amostras adulteradas .....	54
Gráfico 22 - Gráfico de escores, construído com as duas primeiras componentes principais, obtidos a parti dos dados do ESI(-)-MS– Amostras adulteradas .....	54
Gráfico 23 - Escores construído com a CP 2 obtidas do ESI(-) - amostras adulteradas .....	55
Gráfico 24 - <i>Loadings</i> da CP 2 dos dados do ESI(-) obtido a partir das amostrar adulteradas.....	55

## RESUMO

### ESPECTROMETRIA DE MASSAS ALIADA A QUIMIOMETRIA PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE CAFÉ ROBUSTA, ARÁBICA E SEUS BLENDS

CONCEIÇÃO, S.R.; BINATTI, I.; BINATTI, J.O.A.

O café é um insumo de grande importância econômica, no qual os tipos Robusta e Arábica são os mais empregados comercialmente. Acerca de adulterações, o café Arábica está sujeito a adulteração por adição de café Robusta, uma vez que o primeiro apresenta maior valor econômico agregado. A detecção de adulterações é uma tarefa complexa, pois as características do próprio café dificultam o processo. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo utilizar a espectrometria de massas com ionização por *electrospray* aliada a quimiometria para realizar a diferenciação entre cafés 100% Arábica e 100% Robusta, além da diferenciação de cafés 100% Arábica e *blends* de Arábica e Robusta em diferentes concentrações. Os espectros de massa foram obtidos no modo positivo e negativo pelos quais foram desenvolvidos os modelos quimiométricos. Por meio da análise de componentes principais foi possível desenvolver um modelo capaz de realizar a distinção entre as amostras de café Arábica e café Robusta puras. Em sequência, também foi possível desenvolver um modelo capaz de realizar a distinção entre as amostras de café Arábica pura e adulterada. Em geral, os íons com maior influência na distinção no modo positivo são os íons  $m/z$  94 (metilpiridínio), 104 e 176 (trigonelina). No modo negativo os íons que influenciam na distinção são  $m/z$  179, 191 e 353 que correspondem à glicose, ácido quínico e ácido cafeoilquínico, respectivamente.

**Palavras-chave:** café, adulteração, ESI-MS, PCA.

## Sumário

1.	INTRODUÇÃO .....	1
2.	OBJETIVOS .....	3
<b>2.1</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>3</b>
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
<b>3.1</b>	<b>Café .....</b>	<b>4</b>
3.1.1	Contexto histórico do café no Brasil e no mundo.....	7
3.1.2	Panorama econômico do café .....	8
3.1.3	Processamento do café.....	13
3.1.4	Caracterização geral do café .....	17
3.1.4.1	<i>Caracterização do Café Arábica e café Robusta</i> .....	18
3.1.5	Qualidade do café.....	21
3.1.6	Adulterações .....	23
<b>3.2</b>	<b>Análise por espectrometria de massas .....</b>	<b>24</b>
3.2.1	Espectroscopia de massas com ionização por <i>electrospray</i> .....	25
3.2.1.1	<i>Fundamentos da ionização por electrospray</i> .....	26
<b>3.3</b>	<b>Quimiometria.....</b>	<b>30</b>
3.3.1	Organização dos dados.....	31
3.3.2	Pré-tratamento de dados .....	31
3.3.3	Análise de componentes principais - PCA.....	33
3.3.4	Verificação de anomalias .....	35
4.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	36
<b>4.1</b>	<b>Obtenção das amostras .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2</b>	<b>Preparo das amostras.....</b>	<b>36</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise por espectrometria de massas com ionização <i>electrospray</i> – ESI-MS .....</b>	<b>37</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise de componentes principais.....</b>	<b>38</b>
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39

<b>5.1</b>	<b>Análise dos espectros de massa das amostras de café 100% Arábica e café 100% Robusta.....</b>	<b>39</b>
5.1.1	Espectro de massas com ionização <i>electrospray</i> no modo positivo	39
5.1.2	Espectro de massas com ionização <i>electrospray</i> no modo negativo	41
<b>5.2</b>	<b>Análise de componentes principais aplicados para diferenciação de amostras de café 100% Arábica e 100% Robusta</b>	<b>43</b>
5.2.1	Modo positivo .....	43
5.2.2	Modo negativo .....	46
	<b>Análise de componentes principais aplicados para diferenciação entre amostras café 100% Arábica e amostras de café Arábica adulteradas com café Robusta .....</b>	<b>50</b>
5.2.3	Modo positivo .....	50
5.2.4	Modo negativo .....	53
6.	CONCLUSÃO.....	56
7.	REFERÊNCIAS.....	57

# 1. INTRODUÇÃO

Café é por definição “o grão e a cereja do cafeeiro, seja em pergaminho, verde ou torrado, e inclui o café moído, o descafeinado, o líquido e o solúvel” pertencentes às espécies do gênero *Coffea* (MAPA, 2010; Presidência da República, 2012).

Em âmbito nacional, a produção e exportação do café têm um papel fundamental na economia. O agronegócio cafeeiro movimenta grandes recursos financeiros, sendo capaz de gerar empregos diretos e indiretos. Esse cenário é impulsionado por fatores como as boas condições climáticas, além do investimento em tecnologia de cultivo (CONAB, 2021; REIS, 2012).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), em 2020, o Brasil apresentou recorde na produção de café, desempenhando uma participação de 38,7% da produção global. Dessa forma, o Brasil se posiciona como o principal exportador de café do mundo, seguido pelo Vietnã e Colômbia. Os estados responsáveis pelo maior volume de produção são Minas Gerais e Espírito Santo, que correspondem juntos a, aproximadamente, 75% da produção de café brasileira (DURÁN et al., 2017).

Ao longo dos anos, ocorreu um aumento no valor agregado e no consumo do café que se deu através da inovação de produtos e formulações (ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ, 2021). Assim, dado seu valor econômico, o café processado, torrado ou moído, é um produto que tem levantado preocupações de pesquisadores e órgãos fiscalizadores que buscam garantir a integridade e qualidade do produto entregue ao consumidor final (REIS, 2012).

A adulteração do café pode ser dada pela adição intencional de materiais estranhos ao café, que possam comprometer a sua qualidade causando prejuízos ao consumidor, seja de forma econômica ou a saúde. O aspecto granuloso do café, sua textura oleosa e aderente e a sua cor são características que dificultam a diferenciação imediata entre um café íntegro e um adulterado (TAVARES et al., 2012).

Existem, aproximadamente, 100 espécies de café no mundo, sendo que o café Arábica e o café Robusta são os mais comercializados. Café Arábica e

café Robusta são denominações genéricas que agrupam as variedades das espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, respectivamente (SOUZA et al., 2004). No entanto, o café Arábica apresenta maior valor agregado, e por isso, está sujeito a adulteração por adição do café Robusta (TOCI et al., 2016).

Dessa forma, a problemática encontra-se na existência de métodos analíticos que sejam capazes de detectar de forma fácil, rápida e eficaz a presença de adulterantes, principalmente, em se tratando da adição de café com menor valor, cuja detecção é laboriosa (ASSAD et al., 2002). Nos últimos anos, observa-se um expressivo aumento no número de publicações científicas sobre café. As principais áreas de publicação são: agricultura, bioquímica e correlatos, química e ambiental (DURÁN et al., 2017).

Dentre os métodos analíticos pesquisados, destacam-se a identificação de perfis de café e adulterantes através das técnicas de absorção do infravermelho (ATR-FTIR *Spectroscopy*), microscopia, espectrometria de massa com ionização por *electrospray* e cromatografia líquida e gasosa (GARRETT et al., 2012; REIS, 2012; TOCI et al., 2016). No entanto, essas técnicas são capazes de fornecer um grande número de informações, ou variáveis, sejam por análises quantitativas ou qualitativas, o que torna a aplicação da quimiometria relevante para a sua interpretação (REIS, 2012).

A quimiometria pode ser definida como uma área que se aplica as ferramentas originadas da matemática, estatística e computação em problemas de interesse químico (DOMINGUES et al., 2020). Em particular, a análise de componentes principais (do inglês *Principal Components Analysis*, *PCA*) é uma técnica quimiométrica que permite identificar padrões em um grande conjunto de amostras e variáveis de maneira simples, destacando semelhanças e diferenças, sem que haja perdas das informações importantes (SANTO, 2012). Além disso, com devidos tratamentos, a técnica permite o levantamento desde o perfil até identificação e quantificação de substâncias em uma matriz complexa, como é o caso do café.

## 2. OBJETIVOS

Aplicar a análise de componentes principais em dados obtidos por meio da espectrometria de massa com ionização por *electrospray* para diferenciar amostras de café 100% Arábica, 100% Robusta e seus *blends*.

### 2.1 Objetivos específicos

- Preparar as misturas em diferentes proporções, a partir dos cafés em pó 100% Arábica e 100% Robusta.
- Obter os espectros de massas com ionização *electrospray*, ou seja, os *fingerprints* das amostras de café 100% Arábica, 100% Robusta e suas misturas em diferentes proporções.
- Realizar análise exploratória utilizando a Análise de Componentes Principais.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Café**

O Decreto Nº 7.811, de 20 de setembro de 2012 define a palavra café como:

“o grão e a cereja do cafeeiro, seja em pergaminho, verde ou torrado, e inclui o café moído, o descafeinado, o líquido e o solúvel”.

Ademais, o regulamento técnico do Café Torrado acrescenta que os grãos devem ser das espécies do gênero *Coffea*. Este regulamento define também, que “*blend*” é todo produto resultante da mistura de diferentes espécies ou qualidade de grãos do gênero *Coffea* (MAPA, 2010).

Por sua vez, a Instrução Normativa Nº 16, de 24 de maio de 2010 abrange a definição, em que bebida obtida pelo café é “o líquido obtido por infusão, percolação, decantação ou outro processo de preparo a partir do café torrado e moído” (MAPA, 2010).

Na legislação há outras definições pertinentes ao setor, além de diretrizes quanto à produção, beneficiamento e comercialização dos produtos e derivados do café. No quadro 1 estão descritas as principais normas vigentes relacionadas ao café.

### Quadro 1 - Legislações a respeito do café e derivados

Normas	Conteúdo
Decreto-Lei nº 986, de 21/10/1969	Institui normas básicas sobre alimentos.
ANVISA. Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997	Aprova o Regulamento Técnico sobre "Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos".
Resolução SAA - 37, de 9 novembro 2001.	Define Norma Técnica para fixação de identidade e qualidade de café torrado em grão e café torrado e moído.
Portaria nº 219, de 19 de dezembro de 2002	Trata sobre a emissão dos Certificados de Origem do Café
ANVISA. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002	Dispõe sobre o regulamento técnico de POPs aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das BPFs em estabelecimentos produtores/industrializadores de Alimentos.
Portaria nº 141, de 11/04/2003	Dispõe sobre os Certificados de Origem exigidos por força do Acordo Internacional do Café.
Lei nº 10.831, de 23/12/2003	Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências.
Instrução Normativa nº 8, de 11/06/2003	Aprova o regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru.

Continua

Norma de Qualidade Recomendável ABIC/PQC - 28 de abril de 2004 -	Estabelece requisitos técnicos de Qualidade Recomendável e Boas Práticas de Fabricação para a concessão do Símbolo de Qualidade ABIC do PQC - Programa de Qualidade do café da ABIC.
Resolução SAA - 07, de 11 março 2004.	Altera o item 10.2 da Resolução SAA-37, elevando o Nível Mínimo de Qualidade para 4,5 pontos.
Resolução nº 277, de 22/09/2005	Aprova o regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis.
Resolução nº 278, de 22/09/2005	Aprova as categorias de alimentos e embalagens dispensados e com obrigatoriedade de registro.
Portaria nº 153, de 19/05/2008	Define as quantidades permitidas para comercialização de café em embalagens.
Portaria nº 1026, de 10/12/2009	Cria comissão com o objetivo de acompanhar a implementação das medidas de apoio à cafeicultura.
Portaria nº 581, de 06/08/2009	Dispõe sobre o pagamento de café de forma parcelada originária de operações de crédito do Fundo de Defesa da Economia Cafeeira (Funcafé).
Instrução Normativa nº 16, de 24/05/2010	Estabelece o regulamento técnico para o café torrado em grão e café torrado e moído.

Fonte: MORAES (2006) modificado.

### 3.1.1 Contexto histórico do café no Brasil e no mundo

O café tem origem nas regiões montanhosas, do que hoje se compreende, como Sudoeste da Etiópia, norte do Quênia e Sudeste do Sudão. Há inúmeras versões sobre a descoberta do fruto cafeeiro, dentre as mais famosas tem-se a que um pastor observava a reação alegre dos animais após comer do fruto e ele se propôs a experimentá-lo. Assim, uma vez que não seguiu com os estudos, o pastor apresentou os frutos aos monges da época que eram considerados sábios e estudiosos (RUFINO, 2006).

Estes perceberam que o fruto ajudava a evitar o sono nas pessoas que o ingeriram e, assim, desenvolveram produtos derivados, uma vez que o sabor do fruto puro não agradava a todos. As demais lendas envolvem cultura e tradição religiosa que se propagaram por diferentes povos ao longo do tempo (RUFINO, 2006).

Estudos indicam que o consumo do café manteve-se restrito por anos na região do sul da península Arábica, de forma que os iemenitas foram os primeiros cafeicultores do mundo. Na idade média, por sua vez, o café era uma bebida exclusiva dos turcos, sendo vinculada, pela ótica cristã, um costume pagão. Assim, apenas no século 16 o papa Clemente VIII permitiu o consumo da bebida provocando o crescimento significativo do consumo do café pela população ocidental da época (RUFINO, 2006).

Em meados do século 17, surgiram e expandiram cafeterias pela Inglaterra e França, criando-se um ambiente de degustação social da bebida por todas as classes da sociedade. Os holandeses, especificamente, foram os primeiros a cultivarem mudas de café no velho continente, encorajando outros países como a França. Desse modo, ocorreu à expansão do cultivo para além da Europa, abrangendo também as colônias europeias. Iniciou se pela África, Ásia e em seguida para o Novo Mundo (RUFINO, 2006).

Em 1727, Francisco de Melo Palheta trouxe para o Brasil o café. Dessa forma, a história do Brasil e a história do café no Brasil apresentam uma linha tênue, em que a produção do café se expande com a vinda da família Real ao Rio de Janeiro em 1807. Inicialmente, a produção concentrava-se na espécie *Coffea arabica*, porém, após a espécie *Coffea canephora* mostrar-se resistente a

grande incidência de ferrugem esta passou a ser estudada visando seu aproveitamento econômico (RUFINO, 2006).

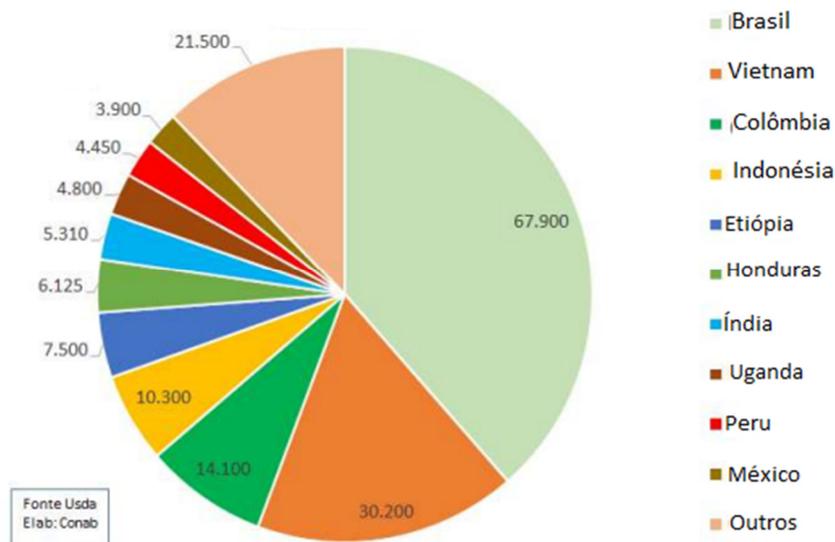
Ao longo da história do Brasil, o café foi cultivado sem atividades formais de pesquisa, que de fato iniciou-se com a criação da Estação Agronômica de Campinas em 1887. Posteriormente, ocorreu a ampliação da atividade cafeeira com a implantação de uma política de valorização do produto. Assim, sutilmente, o cultivo e exploração do grão foram crescendo, que somado a incentivos políticos e demanda externa se tornou uns dos principais produtos de exportação no período de 1925/1929 (RUFINO, 2006).

Em meados da década de 50, ocorreu uma forte intervenção estatal marcada pelo exercício de confisco cambial no agronegócio do café. Em 1997, o Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café (CBP&D) foi criado sendo responsável pelo desenvolvimento do modelo da cadeia produtiva da indústria cafeeira brasileira atual (RUFINO, 2006).

### 3.1.2 Panorama econômico do café

O Brasil apresenta um vasto território com grande diversidade de cultivos e manejos agrícolas. Assim, para englobar o máximo da produção, a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) realiza a geração de informação e conhecimento de forma contínua sobre o setor agrícola. Assim, em parceria com institutos realiza a análise das condições agronômicas, agrometeorológicas e a interpretação e estimativas das lavouras do país (CONAB, 2020).

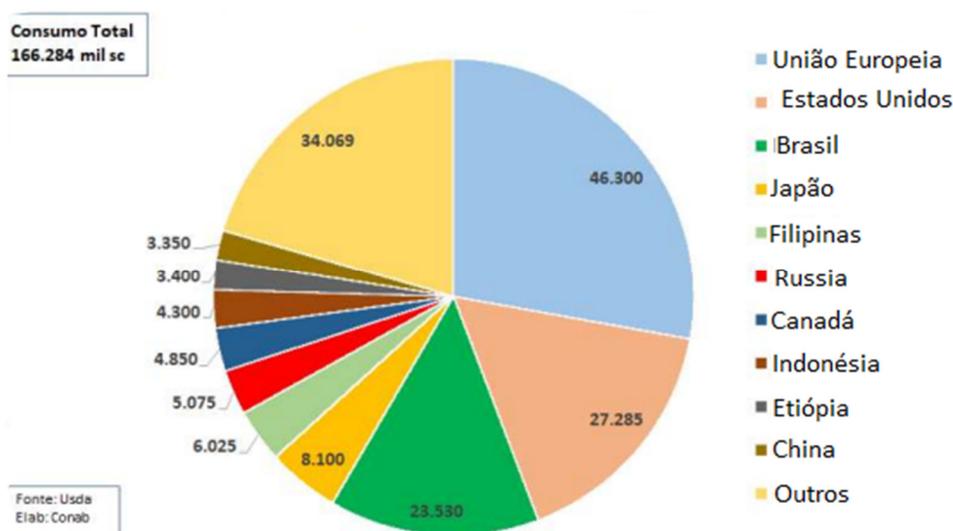
Com base nisso, em 2020, foi feito o levantamento dos principais produtores de café no mundo, considerando como café total a soma do tipo café Arábica e Robusta. No ranking dez, o Brasil lidera seguido pelo Vietnã, Colômbia e Indonésia. No gráfico 1 são apresentados os maiores produtores de café no mundo em 2020/2021 (CONAB, 2020).



**Gráfico 1 - Dez maiores países produtores de café no mundo em 2020/21**

Fonte: CONAB (2020).

Ainda no âmbito mundial, a União Europeia lidera o ranking de maiores consumidores de café Arábica e Robusta no mundo no ano de 2020/21. Segue-se então, os Estados Unidos, o Brasil e o Japão. Ademais, estima-se que em 2020 houve um crescimento de 1,43% para a demanda do mercado mundial. No gráfico 2 está presente os dez maiores países consumidores de café do mundo (CONAB, 2020).



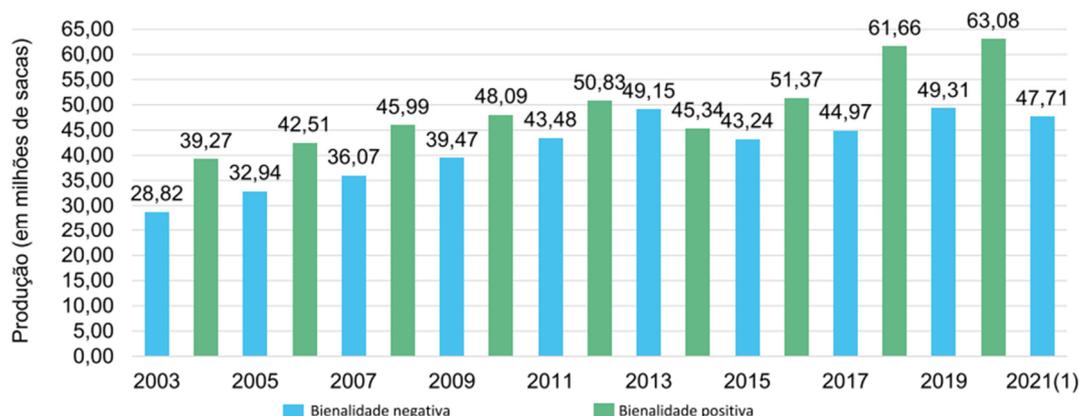
**Gráfico 2 - Os dez maiores países consumidores de café**

Fonte: CONAB (2020)

Seguindo para a abordagem em âmbito nacional é importante esclarecer que o café apresenta ciclo bienal. Isso é uma característica intrínseca a planta que garante que ela se recupere para a próxima safra. Assim, há uma alternância de um ano com grande florada e outro com florada menos intensa. Isso implica que no ano que a planta apresenta-se na bienalidade negativa, ocorrerá a diminuição natural da produção (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB), 2020; CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2021).

Em 2020, o café apresentou-se no ciclo de bienalidade positiva com recorde na série histórica nacional de produção de café. Desse modo, a produção de café aumentou cerca de 30% em relação ao ano de 2019. Esse ganho no rendimento se deve, também, a boas condições climáticas e a investimentos feitos na tecnologia de cultivo, como maquinário e uso de plantio com maior potencial produtivo (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB), 2020).

No entanto, no ano de 2021 o café entrou na bienalidade negativa, o que resultou numa redução na produção em cerca de 20% em relação ao ano de 2020. O comportamento da bienalidade positiva e negativa pode ser visualizado no gráfico 3.



**Gráfico 3 - Produção total de café no Brasil em anos de bienalidade positiva e negativa**

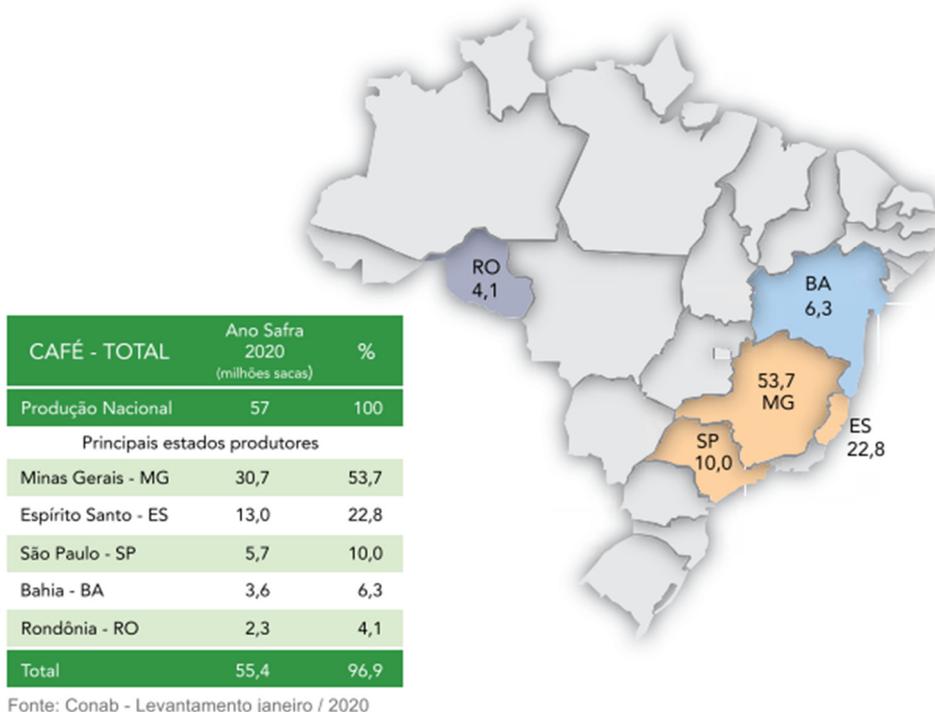
Fonte: CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (2021b)

Acerca da produção de café Arábica, em 2020 a produção apresentou um crescimento de 36% em relação à safra de 2019. Enquanto, o café Robusta apresentou um déficit de 6,2% ao verificado em 2019. Isso se deu devido às baixas precipitações pluviométricas na região do Espírito Santo, principal estado produtor (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB), 2020).

Em 2021, por sua vez, o café Arábica representou 65,6% da produção total (Arábica e Robusta) de café no país. No entanto, isso infere que houve uma redução de 35% da produção quando comparada à safra anterior. O café Arábica apresenta espécies mais influenciada pela bienalidade, enquanto, o café Robusta apresenta espécie mais rústica e, por isso, o ciclo de bienalidade é menos impactante, apresentando menores variações na produção (CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2021).

O estado de Minas Gerais é tradicionalmente reconhecido como grande produtor de café. Estima-se que a produção de café total no estado representou cerca 55% da produção total do país em 2020. Além disso, o estado concentra maiores safras destinadas à cafeicultura nacional, apresentando cerca de 80%, da área de produção do café do tipo Arábica (MAPA, 2020). Na safra de 2020, por exemplo, a cafeicultura mineira registrou recorde de produção em sua série histórica, alcançando mais de 34,6 milhões de sacas do grão beneficiado. Tal cultivo está mais concentrado em algumas mesorregiões do estado, com destaque para Sul e Centro-Oeste, Triângulo Mineiro, Alto Paraíba, Noroeste, Zona da Mata, Vale do rio doce e Central (CONAB, 2021).

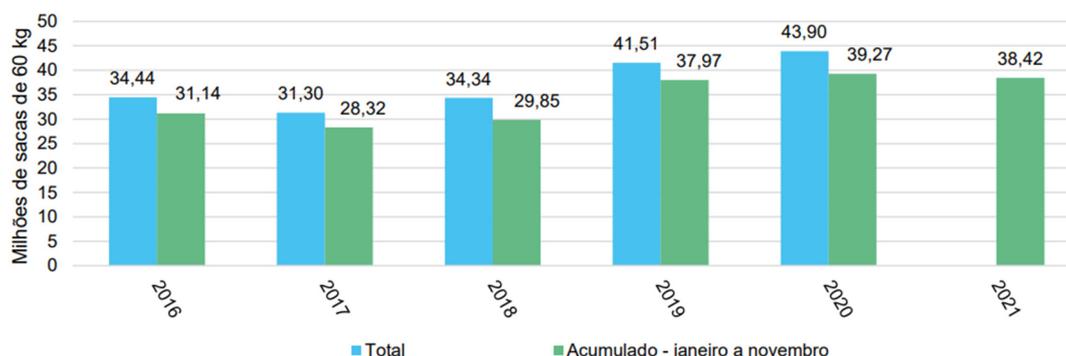
O café Robusta, por sua vez, concentra o maior volume de produção no estado do Espírito Santo, representando cerca de 70% do volume total no país, seguido de Rondônia e Bahia. Em 2020, por fatores climáticos favoreceram a redução de 12,4% em relação na produção de café robusta em relação a safra de 2019. No entanto, em 2021, o estado apresentou um aumento de 1,55% em relação à safra de 2020, alcançando sua série histórica (CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2021). Na figura 1 é possível observar os estados que são os maiores produtores de café (Arábica e Robusta) no Brasil.



**Figura 1 - Principais estados produtores de café - 2020**

Legenda: Cinza escuro: Região Norte; Azul: Região Nordeste; Rosa: Região Sudeste. Fonte: MAPA (2020)

As exportações em 2020 totalizaram cerca de 44 milhões de sacas, cujo valor foi superior ao ano de 2019 em 5,8%, conforme pode ser observado no Gráfico 4. Em valores, somente no primeiro quadrimestre de 2020, a exportações equivale a cerca de US\$ 2 bilhões que é 21,4% maior que o ano anterior (CONAB, 2021).



**Gráfico 4 - Exportações de café entre 2016 e 2021**

Fonte: CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (2021b)

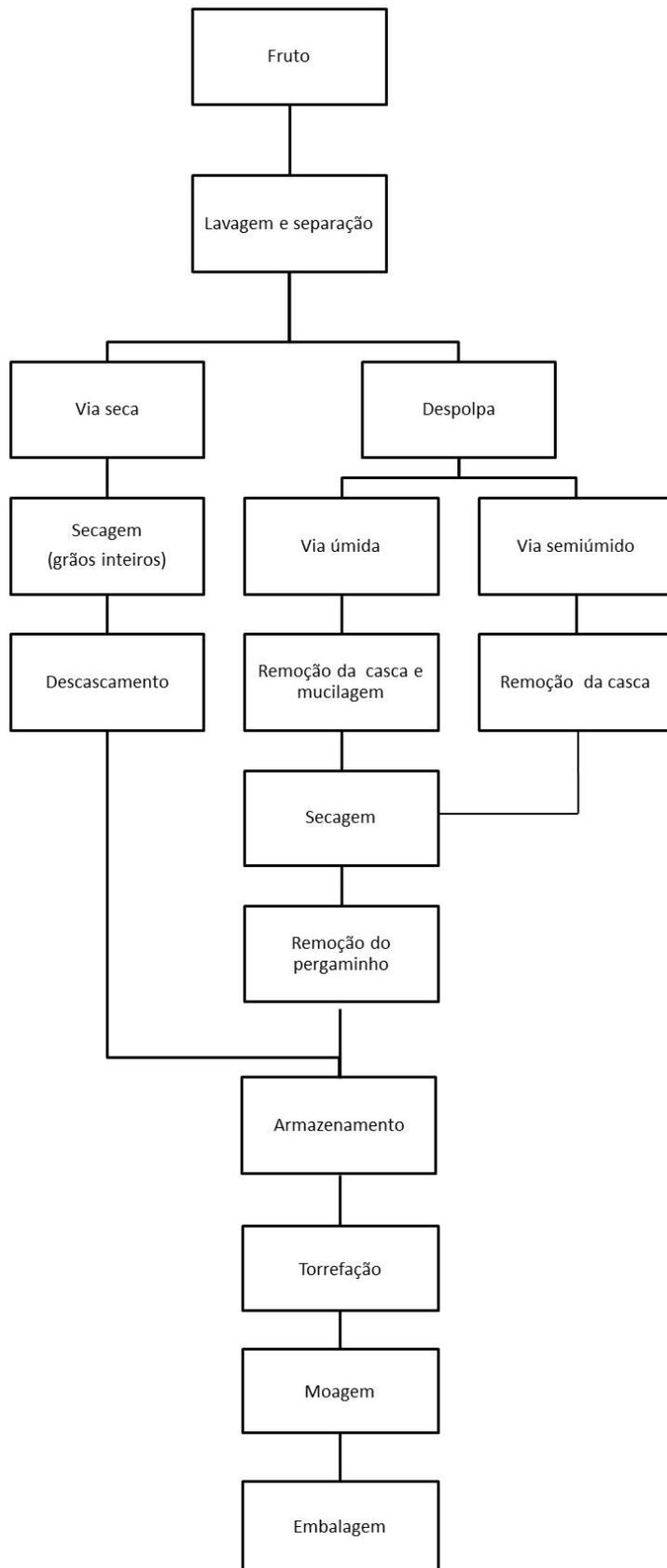
Em 2021, somente entre os meses de janeiro a novembro o Brasil exportou café para 148 países. Em valores, apenas nesses meses as exportações atingiram cerca de US\$ 5,6 bilhões, valor que representa um crescimento de 13% na comparação com igual período do ano passado e que já supera todo o ano de 2020. Isso ocorreu devido ao aumento dos valores de exportação do café no mercado internacional favoreceu o aumento dos valores de exportação do café (CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2021).

### 3.1.3 Processamento do café

O agronegócio do café apresenta uma cadeia produtiva que é composta por: produção, transporte, armazenamento, comunicação, rede bancária, serviços financeiros, corretagem, bolsas, portos, embalagens, publicidade, processamento, industrialização e comercialização (TRISTÃO, 1995).

Antes de seguirem para a indústria, os grãos do café são submetidos ao processo de beneficiamento. Este busca garantir a integridade e qualidade dos grãos e deve ser realizado o quanto mais próximo possível da data de sua comercialização (BASSETTO; CAMPUS; MOURÃO, 2016).

O grão do café será processado através de um método que dependerá do padrão desejado do café final, da quantidade a ser produzida e da quantidade de capital disponível. A maior dificuldade na etapa de beneficiamento é na colheita dos frutos no estágio maduro, pois em uma lavoura e até mesmo em uma mesma planta, pode haver frutos em estágios diferentes de maturação. No Fluxograma 1 é apresentado o esquema geral do processamento do café (ELETROBRAS, 2015).



**Fluxograma 1 - Processamento básico do café**

Fonte: BASSETTO; et al (2016); DURÁN et al., (2017) modificado.

Em linhas gerais, a colheita pode ser feita de forma manual, semimecanizada ou mecanizada. Os grãos depois de colhidos são submetidos ao processo de remoção de sujidades, como a casca, e outros frutos que, porventura, possam vir juntamente com o grão do café. Essa limpeza pode ser realizada através do processo de abanação, separação por vibração ou imersão em água (MORAES, 2006).

O grão de café limpo pode ser processado por três vias distintas, no qual serão obtidos produtos diferentes. Assim, tem-se o método de via seca que consiste no preparo sem a eliminação da casca resultando no café natural. Esta via consiste em manter o fruto intacto, denominado café natural (BASSETTO; CAMPUS; MOURÃO, 2016). Em segundo, tem-se o método por via úmida no qual ocorre a eliminação da casca e da mucilagem resultando-se no café despulpado. E por fim, tem-se o preparo por via semi-úmida que implica na eliminação da casca resultando no café cereja descascado (MORAES, 2006). Tradicionalmente, o café maduro, conhecido como cereja, é processado em via úmida, enquanto o café verde é processado pela via seca (ELETROBRAS, 2015).

Em seguida, os grãos são submetidos à remoção de água através do processo de secagem que pode ser realizada de forma mecânica, em terreiro ou então combinada. A etapa de secagem é uma etapa crítica, pois durante esse processo poderão ocorrer mudanças na composição química e na estrutura física dos grãos que afetarão na qualidade do café final. Ademais, essa etapa determina o índice de qualidade, o nível de classificação e o valor comercial do produto (CORADI; BORÉM; OLEIVEIRA, 2015; ELETROBRAS, 2015; MORAES, 2006).

Após a secagem, se o preparo foi por via seca, tem-se o café em coco, e se por via úmida, obtém o café revestido pelo pergaminho (endocarpo). Na indústria de torrefação, o processo de torrefação e moagem de café é, basicamente, o mesmo em todas as empresas do ramo. O que diferencia, em princípio, uma unidade da outra é a automatização do processo de envasamento (embalagem) e a cor final do produto que pode variar conforme tipo de produto final requerido, conforme apresenta no quadro 2 (MORAES, 2006).

**Quadro 2 - Graus de Torra do Café**

<b>Grau de Torra</b>	<b>Classificação</b>	<b>Características</b>
<b>Não recomendada</b>	Muito escura	Bebida muito escura com acentuado sabor de queimado pela carbonização dos grãos. Perda de corpo e acidez
	Escura	
<b>Escura</b>	Moderadamente escura	Corpo enfatizado e acidez leve e amargor acentuado
<b>Média</b>	Média	Equilíbrio entre corpo e acidez. Aromas acentuados e profundos
	Média clara	
<b>Clara</b>	Moderadamente clara	Acidez enfatizada, pouco corpo e suavidade de aromas
<b>Muito clara</b>	Clara	Pouca acidez e corpo. Leve sabor de grãos verdes
	Muito clara	

Fonte: MAPA (2021)

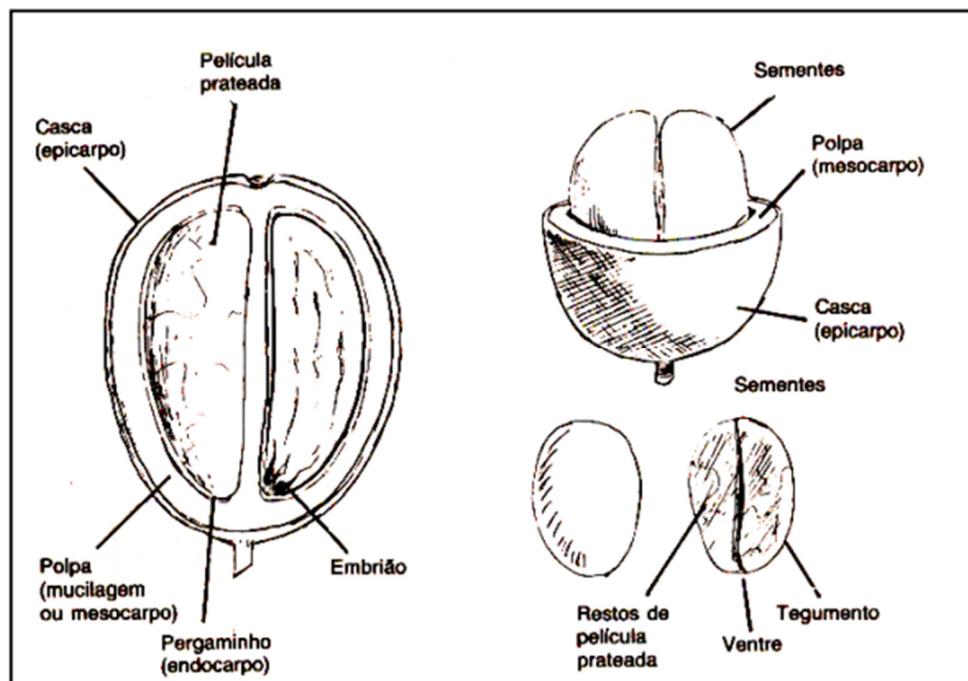
As propriedades químicas e físicas do café cru são sensíveis aos parâmetros de torrefação devido às temperaturas envolvidas no processo. Ao longo dos anos, o processo de torrefação sofreu forte evolução, pois o tempo de torrefação foi encurtado de trinta minutos para apenas cinco minutos e a temperatura reduzida de 900°C para 190° (ELETROBRAS, 2015).

A moagem, por sua vez, é o processo em que ocorre a diminuição dos grãos, efetuada por rolos mecânicos para se obter um pó de granulometria variável (BASSETTO; CAMPUS; MOURÃO, 2016). Após ser torrado o café está pronto para o consumo e deve ser armazenado para não perder seu frescor e aroma característico. As embalagens variam e podem ser combinadas de acordo com o padrão do fabricante e as normas vigentes, como vidro, alumínio e outros (ELETROBRAS, 2015).

### 3.1.4 Caracterização geral do café

O café é um dos insumos mais importantes para a economia, a nível nacional e internacional, sendo matéria-prima da bebida mais apreciada e socialmente aceita (ALVES; CASAL, 2009). O café não possui um alto valor nutricional, porém alguns compostos químicos presentes na bebida geram ao consumidor efeitos fisiológicos e psicológicos relacionados ao prazer e a satisfação (SIVETZ; FOOTE, 1997). Arruda (2009) demonstrou em seu trabalho que o consumo do café reflete um ato social de relacionamento, incluindo aspectos como hábito, família, amizade e trabalho.

Biologicamente, o fruto do cafeeiro é constituído de epicarpo (casca), mesocarpo (mucilagem/polpa), endocarpo (pergaminho), espermoderma (película prateada) e endosperma (semente) que constitui o grão propriamente dito, conforme apresentado na Figura 2 (CLARKE; MACRAE, 1985).



**Figura 2 - Morfologia do grão de café**

Fonte: OLIVEIRA (2006)

Tratando-se de parâmetros químicos, o grão do café é uma matriz de composição complexa, na qual estima-se apresentar mais de 2000 compostos

químicos. De modo geral, a constituição química do grão do café inclui, componentes voláteis e não-voláteis (MOREIRA et al., 2000).

O estudo da influência da diversidade genética das espécies sobre a composição química de café Arábica corroborou demonstrando a presença de açúcares (sacarose e açúcares redutores), ácido carboxílicos, como ácido cítrico, ácido quínico e ácido málico. Além de compostos fenólicos, ácidos clorogênico, proteínas, compostos nitrogenados como cafeína, trigonelina, lipídeos e diterpenos totais (caveol e cafestol) (KITZBERGER et al., 2013).

A composição da bebida também é variada e complexa, pois os compostos presentes na bebida estão sujeitos à variação segundo a espécie a qual pertence, fatores edafoclimáticos, tratos culturais, maturidade e sanidade dos grãos durante o processamento e o tipo de processamento, além do armazenamento que os grãos serão submetidos. Interferem também, os parâmetros de torragem, moagem e os métodos empregados no preparo da bebida, como o volume da bebida a ser preparado e tipo de extração (NEHLIG, 1999; PINHEIRO et al., 2020).

Somente o aroma do café torrado apresenta mais de 800 componentes que estão em diferentes intensidades e concentrações, sendo a maior parte formada por reações de *Maillard* durante o processo da torra. Dentre as principais classes de compostos voláteis encontradas no café estão hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácido carboxílicos, ésteres, pirazinas, piranos, piridinas, indóis, quinocalinas, compostos sulfurados, compostos fenólicos, tiofenois, compostos benzênicos, tiazóis, lactonas, e oxazóis, entre outras (PINHEIRO et al., 2020).

#### 3.1.4.1 Caracterização do Café Arábica e café Robusta

Em termos botânicos, as espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* pertencem à seção *Eucoffea* que está inserida no gênero *Coffea* pertencente à família das *Rubiaceae* (COSTE, 1969; RENA et al., 1994). Essas espécies apresentam uma gama de variedades e são cultivadas em regiões de clima tropical e subtropical. Assim, o café Arábica e o café Robusta representam o agrupamento de variedades da espécie *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, respectivamente. (SOUZA et al., 2004). O café Robusta também é conhecido

como Café Conilon, assim neste trabalho, ele será denominada apenas como café Robusta (GALANAKIS, 2017; ILLY; VIANI, 2004).

As diferenças entre as espécies se dão pelas características fisiológicas como: diferença no número de cromossomos, diferença no tempo de florada, diferença no tempo de formação e maturação dos frutos, e o café Robusta é mais resistente a intempéries e doenças (ALVES; CASAL, 2009; DO NASCIMENTO et al., 2007).

O café Arábica, nativo da Etiópia, atualmente é cultivado em diversos países no continente americano, africano e asiático (SOUZA et al., 2004). Quanto ao café Robusta, este é originado da região central do continente africano, citando Angola, Uganda e República da Guiné como produtores representantes (CHARRIER; BERTHAUD, 1988).

Há também diferenças nas características organolépticas, visto que o Café Robusta apresenta sabor neutro, sendo mais adstringente com pouca a média acidez. Enquanto, o café Arábica apresenta aroma marcante e sabor agradável, brando e adocicado, podendo ser consumida pura ou em misturas com outras espécies de cafés. No quadro 3 estão descritas as características fisiológicas e organolépticas do café Arábica e Robusta (DO NASCIMENTO et al., 2007; MAPA, MINISTERIO DE ESTADO DA AGRICULTURA, 2003; PINHEIRO et al., 2020).

**Quadro 3 - Características fisiológicas e organolépticas do café Arábica e Robusta**

<b>Característica</b>	<b>Café Arábica</b>	<b>Café Robusta</b>
Origem	Restrita (Etiópia)	Ampla (Bacia do Congo)
Porte	Mais baixo	Mais alto
Cor do fruto	Mais claro	Mais escuro
Sólidos solúveis	Menor teor	Maior teor

Continua

Déficit Hídrico	Mais sensível	Menos sensível
Rusticidade	Menor	Maior
Tolerância à ferrugem	Menor	Maior
Resistência a nematóides	Menor	Maior
Industrialização	Torrado e moído	Solúvel e <i>Blends</i>
Período de Maturação	Menor	Maior
Colheita	Permite mecanizar	Difícil mecanizar
Secagem	Maior tempo	Menor tempo
Preço	Maior	Menor
Mercado	Maior (70%)	Menor (30%)
Qualidade de xícara	Superior	Inferior
Bebida	Sabor suave	Sabor diferenciado

Fonte: (GALANAKIS, 2017; SOUZA et al., 2004) modificado.

Com isso, o aroma e o sabor do café Arábica é mais apreciado comercialmente do que o Robusta, isto é, a bebida obtida dos grãos Arábica apresenta uma qualidade e aceitação superior ao Robusta, tornando a espécie com maior valor econômico agregado. O preço médio do café Arábica é quase o dobro do Robusta (ILLY; VIANI, 2004).

Além disso, há diferenças nas características físico-químicas, a citar como exemplo, diferenças significativas nos níveis de trigonelina, sacarose, cafeína,

ácido clorogênico e lipídios, como pode ser observado na tabela 1, onde está descritos a composição geral dos grãos de café Arábica e Robusta (PINHEIRO et al., 2020).

**Tabela 1 - Composição química dos grãos de café Arábica e Robusta**

<b>Componente</b>	<b>Café Arábica</b>	<b>Café Robusta</b>
Cafeína	0,7-1,4	1,2-2,4
Trigonelina	1,0-1,2	0,6-0,7
Minerais	3-4,2	3-4,2
Lignina	1-3	1-3
Proteínas	11,0-13,0	11,0-13,0
Aminoácidos livres	0,2-0,8	0,2-0,8
Óleos	7,7-16,0	7,7-16,0
Ceras	0,2-0,3	0,2-0,3
Ácido clorogênico totais	3,5-7,3	7,0-14,0
Ácidos alifáticos não voláteis	2-2,9	1,3-2,2
Ácidos voláteis	0,1	0,1
Carboidratos solúveis	9-12,5	6,0-11,5
Polissacarídeos insolúveis	46-53	34-44

Fonte: OLIVEIRA (2006)

### 3.1.5 Qualidade do café

Para que o café seja considerado de qualidade, as propriedades físico-químicas e sensoriais precisam atender alguns padrões (MENDONÇA, 2004). As classificações de qualidade podem ser dadas pelo aspecto, pureza e aroma da bebida. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de relacionar os componentes físico e químicos do grão com a qualidade do café pela proposição de parâmetros mais precisos capazes de avaliar esta qualidade (CARVALHO et al., 1994).

Os parâmetros que influenciam na qualidade do café são o local de cultivo, pois as condições climáticas e a flora microbiana têm papel importante na obtenção de café de boa ou má qualidade. Ademais, uma determinada flora microbiológica pode ser favorecida em condições ambientais e locais específicos proporcionando fermentação benéfica ou não (SAMPAIO, 1993).

Cada solo pode apresentar uma composição nutricional diferente que influenciará na qualidade do café, denominado efeito de adubação (AMORIM et al., 1973). Além disso, o café de qualidade é obtido em condições ideais de maturação, pois a presença de grãos não maduros e com defeitos podem prejudicar a bebida final (MAZZAFERA, 1999; OHIOKPEHAI; BRUMEN; CLINFFORD, 1982).

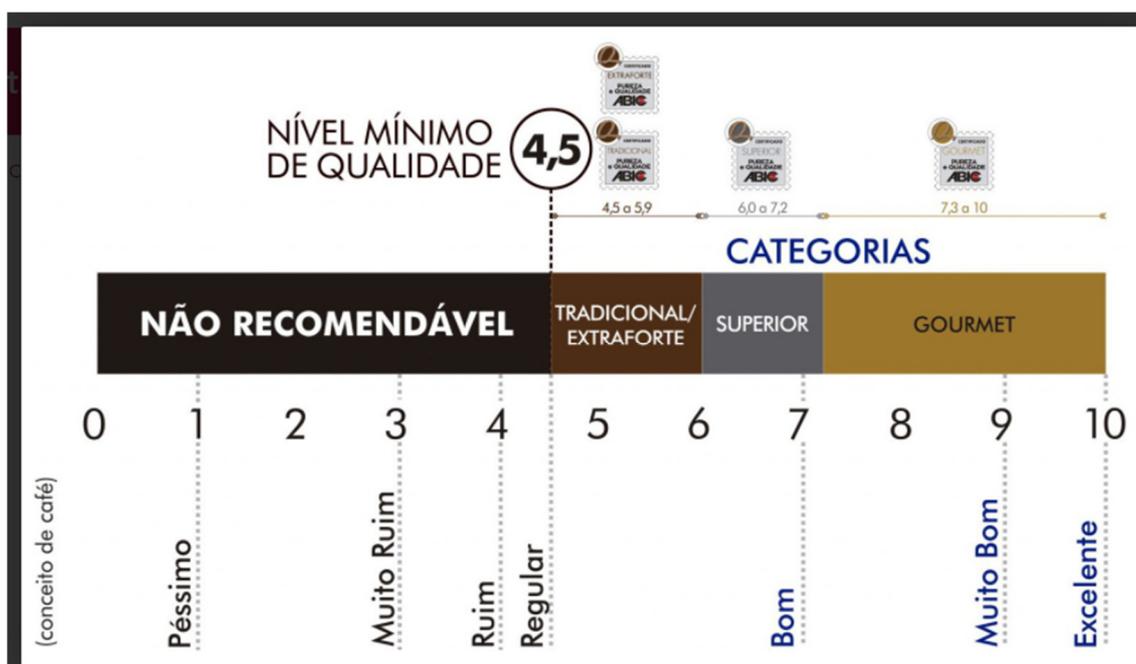
Nota-se que a composição química dos grãos define a qualidade do café pois está relacionada com o sabor e aroma da bebida. Isso acontece devido à complexidade dos compostos químicos presentes nos cafés dentre os quais podemos destacar os compostos voláteis. As quantidades desses compostos voláteis dependem muito do método de processamento utilizado, tais como tipo de secagem, torração, armazenamento, mucilagem, moagem (MAIER, 1981, 1983).

E por fim, as misturas de café são utilizadas quando se deseja obter um produto que atenda o consumidor. Essa mistura pode afetar a qualidade em função de maior lucro no mercado (SAMPAIO, 1993).

A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, em 1978, estabeleceu os parâmetros da qualidade do café comercial que tange a tipo, peneira e cor. No entanto, atualmente houve um incremento nos requisitos a serem avaliados, levando-se também em consideração as características organolépticas da bebida como aroma e o paladar (SILVA, 1997).

Dentre essas características podemos destacar: o grau de intensidade do aroma, fragrância do pó, sabores quanto à acidez, amargor e adstringência. Na figura 3 está apresentada a escala da Qualidade Global do café, segundo ABIC, no qual o café é classificado e certificado de acordo com a escala sensorial que varia de 0 a 10. Assim, não recomenda-se que o café apresente nota entre 0 e 4,4 na escala da qualidade global, pois isso caracteriza um café de conceito péssimo a ruim. Para cafés tradicionais ou extraforte a nota

da qualidade global deve ser entre 4,5 e 5,9, conceituando-o em um café bom. Tratando de cafés superiores a nota da qualidade global deve ser entre 6,0 e 7,2 para o conceito de café muito bom. E para cafés gourmet a nota de qualidade global é de 7,3 até 10 caracterizando um café excelente ABIC (2003).



**Figura 3 - Escala sensorial do café torrado e moído**

Fonte: ABIC (2003)

### 3.1.6 Adultrações

Na Inglaterra no século XVIII houve os primeiros registros acerca das adultrações em alimentos (CORREIA, 2016). De acordo com a Lei 9.677/98 de 2 de julho de 1998 do código penal brasileiro "... falsificação, corrupção, adultração ou alteração de substância ou produtos alimentícios são configurados como crime contra a saúde pública".

Com base nisso, o café por ser um produto de alto valor agregado no mercado nacional e internacional apresenta-se como alvo potencial de adultrações. Suas características físicas corroboram para falsificação como através da adição de matérias-primas de qualidade inferior como milho, cascas e paus, produzindo um produto de má qualidade que, no geral, é consumido por grande parte da população (TAVARES et al., 2012).

Desse modo, a ocorrência de adulteração de café Arábica por adição de café Robusta mostra-se um problema devido ao alto valor do café Arábica. Nesse panorama o estudo de métodos rápidos e precisos mostra-se essencial para combater a prática fraudulenta (PIZARRO; ESTEBANDÍEZ; GONZÁLEZ-SÁIZ, 2007).

### 3.2 Análise por espectrometria de massas

O espectrômetro de massa é um instrumento contendo o *inlet* para introdução da amostra, a fonte de íons, um separador ou filtro de massas e um detector acoplado ao sistema de análise de dados, conforme apresentado na figura 4. Existem diversos métodos de ionização, e uma vez gerados os íons, os processos de separação e detecção podem ser escolhidos de acordo com a amostra e requisitos do sistema, com sensibilidade, resolução, precisão e custo. Este trabalho irá se ater a geração de íons por *electrospray* (MORAES; LAGO, 2003).

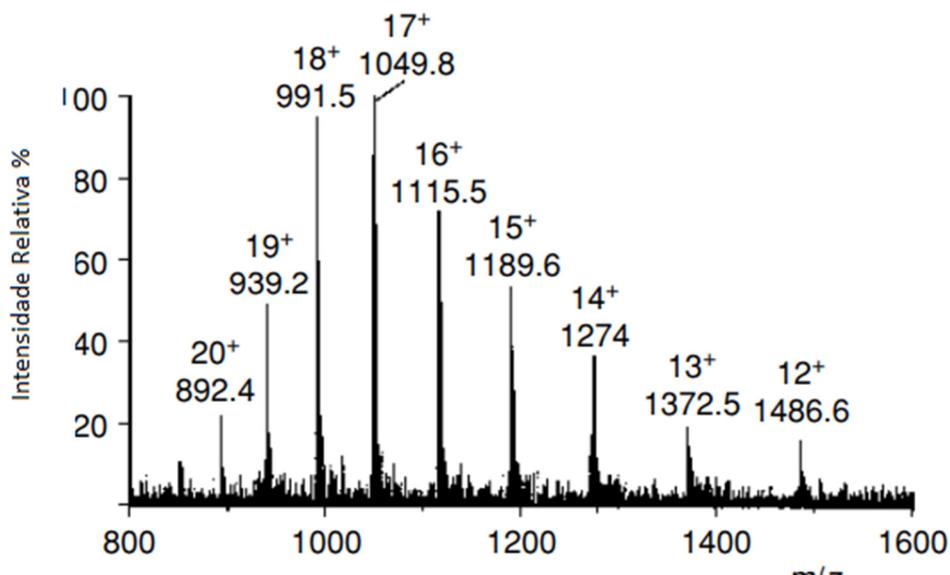


**Figura 4 - Esquema do espectrômetro de massa**

Foi desenvolvida uma grande variedade de fontes e de analisadores de massas. Em geral, os analisadores de massa usam eletricidade estática ou dinâmica e campos magnéticos que podem ser isolados ou combinados. Em tese, a diferença de funcionamento está no modo em que é aplicado o campo eletromagnético para assegurar a formação e separação dos íons da amostra (HOFFMANN; STROOBANT, 2007).

A espectrometria de massa apresenta princípio de pesagem em alto vácuo das moléculas que foram previamente ionizadas através de sinais emitidos após aplicação de um campo elétrico, magnético ou eletromagnético. A técnica permite o estudo de matrizes complexas, informando perfis de fragmentação, razão massa/carga ( $m/z$ ) e outras informações físico-

químicas. Um espectro de massas esquemático pode ser observado na figura 5 (HOFFMANN; STROOBANT, 2007).



**Figura 5 - Esquema do espectro de massa**

Fonte: HOFFMANN; STROOBANT (2007) modificado.

A propriedade física dos íons que é medida por um o analisador de massa é a razão massa-carga ( $m/z$ ), e não apenas a massa. Portanto, devem ser mencionados que, para íons com carga múltipla, os valores aparentes de  $m/z$  são fracionários de suas massas reais (HOFFMANN; STROOBANT, 2007).

### 3.2.1 Espectroscopia de massas com ionização por *electrospray*

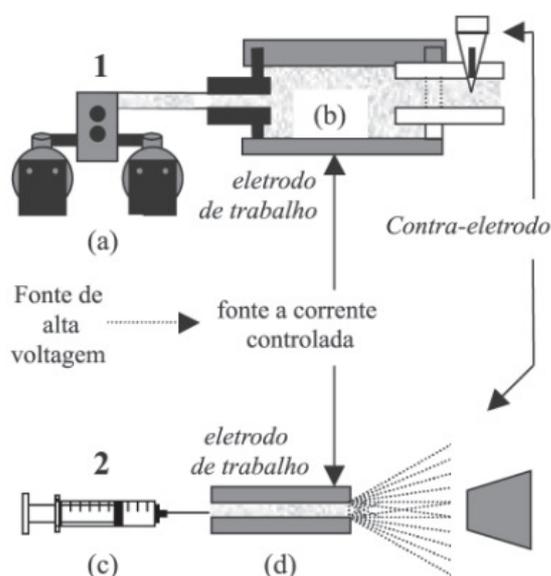
O uso da técnica de espectroscopia de massas com ionização por *electrospray* (do inglês, *ElectroSpray ionization*, ESI) vem sendo aplicada como ferramenta de estudo em diversos segmentos científicos (CROTTI et al., 2006). O estudo do *electrospray* iniciou se em 1968, por Dole, porém apenas em 1984 Yamashita e Fenn demonstraram a aplicabilidade desta técnica como um método de ionização branda para moléculas proteicas (DOLE et al., 1968; YAMASHITA; FENN, 1984).

Desse modo, a técnica tem sido aplicada às análises de produtos naturais, como própolis, óleos essenciais e óleos vegetais; alimentos como frutas, para

diferenciar níveis de maturação e seus processos pós-colheita; para o controle de qualidade de bebida, como uísque e cerveja, e combustíveis, como petróleo e biodiesel. Esta técnica emprega pouca preparação das amostras, como diluição, e é aplicada a maioria dos compostos ionizáveis, incluindo proteínas, ácidos nucleicos, e até mesmo complexos metálicos, desde que sejam iônicos ou apresentem sítios ácidos ou básicos (DINIZ, 2011; SAWAYA et al., 2011; SCHIOZER et al., 2012).

### 3.2.1.1 Fundamentos da ionização por *electrospray*

O processo de ionização por *electrospray*, refere-se à formação de um *spray* eletrostático constituído por pequenas gotas carregadas eletricamente. A solução amostra está contida em um tubo capilar em baixa vazão. O sistema sob pressão atmosférica é alimentado por uma fonte de alta tensão. Com a aplicação da diferença de potencial entre o tubo capilar e o eletrodo, os íons tendem a se formar acumulando se na superfície do líquido em um processo de separação de cargas, chamado processo eletroforético, apresentado na figura 6 (COLE, 1997;HOFFMANN; STROOBANT, 2007; MORAES; LAGO, 2003).



**Figura 6 - Esquema de uma fonte por *electrospray***

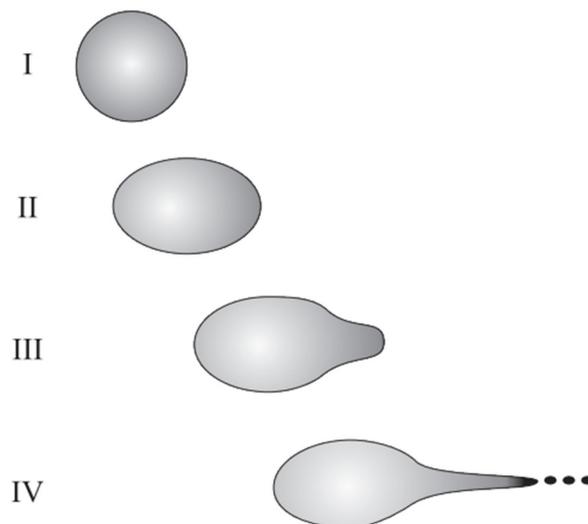
Fonte: CROTTI et al. (2006). Legenda: (1) fonte de ionização linear por *electrospray* (2). (a) bomba injetora de fluxo; (b) célula-fluxo; (c) bomba de infusão; (d) capilar IES.

Dessa forma, há a bomba de injeção (c) que injeta a amostra que é carregada no capilar (d) para o eletrodo de trabalho (d). Assim, o eletrodo de trabalho é constituído pela fonte de alta voltagem onde se aplica o potencial (a) e o contra eletrodo que fecha o circuito eletrolítico, além do que gás atua como eletrólito.

A migração das cargas na superfície capilar/solução forma a dupla camada elétrica que resulta na formação de gotas com superfície carregadas (CROTTI et al., 2006). Como nas células eletrolíticas convencionais, predominará a reação com menor potencial de oxidação que vai depender da composição do eletrodo, do material na solução e da natureza do solvente (MORAES; LAGO, 2003).

Um gás inerte de baixa pressão é injetado em contra fluxo cuja finalidade é remover as moléculas do solvente remanescente aumentando a densidade de carga na gota (HOFFMANN; STROOBANT, 2007). Com aumento da densidade da carga dentro da solução no capilar, ocorre simultaneamente o aumento do campo elétrico entre o capilar e o contra eletrodo promovendo a deformação da gota carregada. Essa deformação assemelha-se a um cone, denominado cone de Taylor (MORAES; LAGO, 2003)

A tensão superficial torna-se grande de tal modo que ocorre o fenômeno de explosão coulômbica em que há a formação de gotículas altamente carregadas, isto é, a força de tensão superficial do líquido é superada ocorrendo à liberação de gotas menores com alta densidade de carga, os *sprays* que pode ser visualizado na figura 7. As gotículas são denominadas "*spray*" que gera a corrente eletrolítica (CROTTI et al., 2006; MORAES; LAGO, 2003)

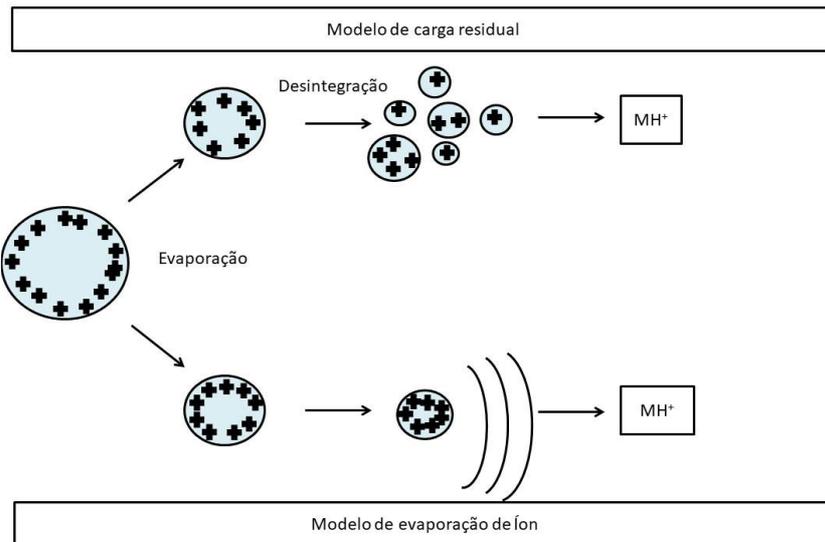


**Figura 7 - Decomposição da gotícula pelo mecanismo do Cone de Taylor**

Fonte: (MORAES; LAGO, 2003).

Após a formação das pequenas gotas de alta densidade de carga no cone de Taylor, o calor e o gás secante continuam favorecendo a remoção do solvente de forma a aumentar a concentração de carga por unidade de volume, e assim o campo elétrico. Quando o campo elétrico torna-se suficientemente grande, isto é, o acúmulo de carga nas superfícies da gotícula forma-se as gotículas de *spray* contendo as moléculas ionizadas (HOFFMANN; STROOBANT, 2007).

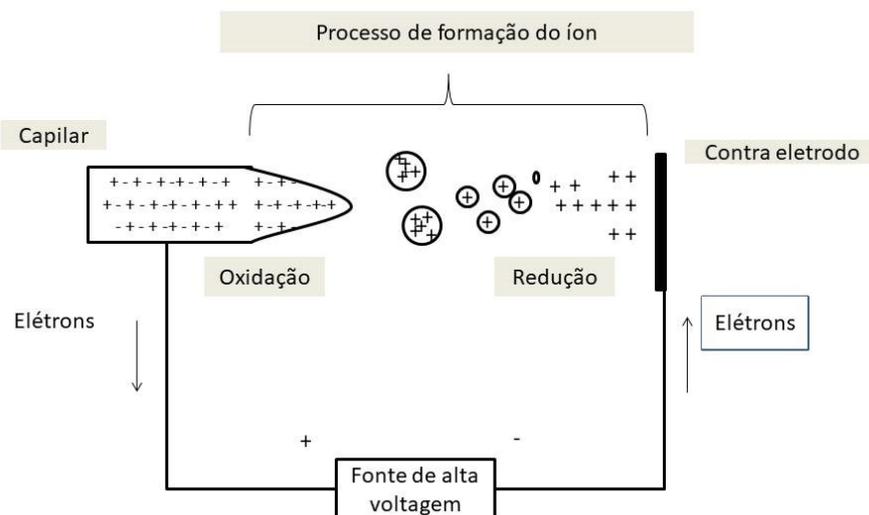
Quanto à formação dos íons na solução, há duas teóricas principais. A primeira, o modelo carga residual (CRM) proposto por Dole em 1986, defende que para que ocorra a formação dos íons, a gota deve ser pequena a tal ponto em que haja apenas um íon na gotícula que é expelido pela evaporação completa do solvente, restando o íon em fase gasosa. O segundo mecanismo, o modelo de evaporação de íon (*Ion Evaporation Model - IEM*) proposto por Thomsom e Iribarne, defende que ocorreria a expulsão dos íons para fase gasosa uma vez que a gota apresenta alta densidade da carga, conforme esquematizado na figura 8 (MORAES; LAGO, 2003).



**Figura 8 - Mecanismo de formação de íons**

Fonte: DINIZ (2011) modificado

Dessa forma, o funcionamento do processo de ionização por *electrospray* assemelha-se a uma célula eletrolítica convencional, onde o capilar metálico ou um fio metálico em contato com a solução é um dos eletrodos da célula. Apesar de não estar diretamente em contato com a solução, o contra eletrodo completa o circuito, conforme a figura 9. Assim, a técnica depende da concentração de íons e mobilidade, bem como nos efeitos de polarização na ponta da sonda (HOFFMANN; STROOBANT, 2007).



**Figura 9 Esquema do ESI comparado a uma célula eletrolítica**

Fonte: (HOFFMANN; STROOBANT, 2007) modificado.

Assim, parte do transporte de íons ocorre na fase gasosa, e a outra ocorre na reação de oxidação na interface solução/fio metálico ou na oxidação das espécies neutras da solução. Estes processos são válidos se considerarmos o *electrospray* como fonte de íons positivos (MORAES; LAGO, 2003).

### **3.3 Quimiometria**

Devido aos avanços tecnológicos na área da química e nos instrumentos eletrônicos, as análises químicas passaram de experimentos simples de bancada para análises instrumentais que utilizando *softwares* resultaram em um aumento da complexidade das análises e conseqüentemente do número de respostas e variáveis atreladas (FERREIRA, 2015).

Isso ocorre porque os instrumentos não produzem um resultado direto, e sim sinais eletromagnéticos que precisam ser transformados e interpretados. Em uma única análise, o instrumento pode emitir centenas de sinais respostas nos quais precisam ser filtrados para se obter as informações de importância. A matemática e a estatística são áreas que apresentam ferramentas capazes de manipular um grande conjunto de dados. Desse modo, surge a quimiometria que busca resolver problemas de origem química com aplicações de ferramentas da matemática e da estatística (FERREIRA, 2015).

Em 1969, os pesquisadores Jurs, Kowalski, Isenhour e Reilly publicaram na revista *Analytical Chemistry* uma série de artigos sobre o tratamento de dados químicos e assim a comunidade científica vislumbrou o grande potencial dos métodos multivariados. O termo "*Kimimetri*", que deu origem a palavra quimiometria, foi usado pela primeira vez por Svante Wold em 1972 em uma publicação na revista sueca *Kemisk Tidskrift* e no ano de 1975 o termo *Chemometrics* apareceu na língua inglesa com a publicação de um artigo pelo pesquisador Kowalski (FERREIRA, 2015).

Assim, dentre as definições formais dadas a quimiometria podemos destacar como aquela que define a quimiometria como o uso de métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento, interpretação e previsão de dados químicos. Por meio dela, é possível planejar, aperfeiçoar procedimentos experimentais, bem como obter conhecimentos sobre os sistemas químicos (FERREIRA, 2015).

### 3.3.1 Organização dos dados

Os dados obtidos em uma análise podem ser classificados como variáveis qualitativas e quantitativas. As variáveis qualitativas assumem categorias ou valores discretos definidos, como por exemplo, sexo, estado civil, curso de graduação e bairro. E enquanto a variáveis quantitativas assumem qualquer valor numérico em uma escala contínua, como resultado de uma medida, como: peso, idade e salário (FERREIRA, 2015) .

Dessa forma, uma vez coletados, os dados de uma análise devem ser organizados em um arranjo ordenado de linhas e colunas denominado matriz  $\mathbf{X}$  ( $i \times j$ ),

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & \cdots & x_{1j} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{i1} & \cdots & x_{ij} \end{bmatrix}$$

Assim, cada linha corresponde a uma amostra ou objeto de estudo e cada coluna apresenta as variáveis. De forma esquemática, uma matriz tem  $i$  amostras e  $j$  propriedades ou variáveis associadas, de modo que cada amostras tem um vetor linha contendo todas as variáveis em estudo. Ademais, cada coluna corresponde a um vetor ou ponto no espaço de  $j$  dimensão (FERREIRA, 2015).

Matematicamente, isso significa que em um espaço real a matriz  $\mathbf{X}$  corresponde a um arranjo de vetores no sistema de coordenadas. Pode haver, portanto, duas interpretações, sendo a primeiro que cada variável correspondente a um eixo cujo espaço é denominado espaço-linha, e a segunda que cada coluna sendo um eixo cujo espaço é denominado espaço-coluna (FERREIRA, 2015).

### 3.3.2 Pré-tratamento de dados

O pré-tratamento de dados se refere aos procedimentos aplicados a variáveis a fim de diminuir variações indesejáveis que poderão influenciar os resultados. Essas variações, por sua vez, não são eliminadas naturalmente durante a aquisição dos dados e podem gerar tendências falsas quando submetidas a uma análise estatística mais densa (FERREIRA, 2015).

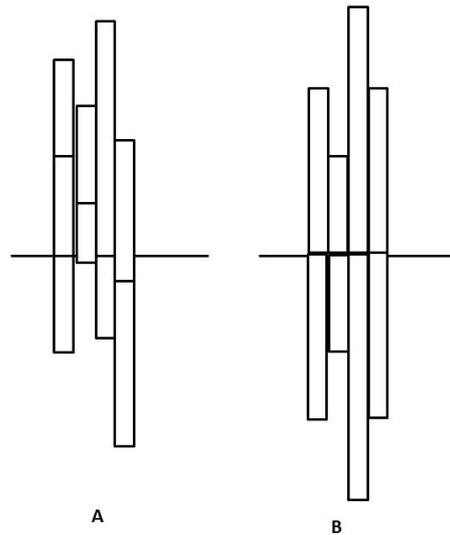
O pré-tratamento de dados é subdividido em dois tipos, a transformação e o pré-processamento. A transformação se deve a qualquer tipo de tratamento efetuado diretamente sobre as amostras (Linha da matriz **X**) enquanto o pré-processamento se refere ao tratamento aplicados sobre as variáveis (Colunas da matriz **X**) (FERREIRA, 2015).

Este trabalho irá se atentar ao pré-processamento denominado centralização dos dados na média (FERREIRA, 2015). O procedimento de centralização dos dados na média consiste no cálculo do valor médio de cada coluna da matriz de dados seguido da subtração do valor médio encontrado a cada valor da coluna, conforme o exemplo na tabela 2. Assim, os novos valores poderão ser positivos ou negativos (FERREIRA, 2015).

**Tabela 2 – Centralização dos dados na média**

<b>Dados</b>	<b>Média</b>	<b>Centralização dos dados na média (Valor-média)</b>
10		-1,25
12		0,75
14	11,25	2,75
9		-2,25

Esse resultado gera uma translação de eixos para o valor médio preservando a estrutura dos dados, porém previne que variáveis mais distantes do centro gere tendência ou influencie mais o comportamento dos dados do que variáveis com valores mais próximos do centro. A figura 10 apresenta o efeito da centralização dos dados na média. Assim, verificar que a posição relativa dos dados não foi alterada havendo apenas a translação das coordenadas para origem no centro dos dados (HAIR et al., 2009).



**Figura 10 - Pré-processamento de dados**

Legenda: A) Dados originais; B) Dados após a centralização na média

Fonte: HAIR et al (2009) modificado.

### 3.3.3 Análise de componentes principais - PCA

A análise de componentes principais, é o método capaz de diminuir a dimensionalidade dos dados sem afetar as relações entre as variáveis, extraindo apenas a informações relevantes em um espaço de dimensão reduzida. Essa metodologia permite descobrir, visualizar e interpretar as diferenças e semelhanças existentes entre as amostras, além de detectar comportamentos (perfis) e anomalias (atípicos) (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

A redução da dimensionalidade consiste na compressão dos dados de forma controlada sem a perda de informações. Esse método está fundamentado na correlação e covariância existentes entre as variáveis. Portanto, a PCA consiste em uma mudança de base (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

A PCA tem como principais vantagens:

- Redução de variáveis, pois transforma muitas variáveis em poucas componentes;
- As componentes principais podem ser graficamente representadas em eixos o que facilitam a visualização e interpretação;

- A variância pode ser explicada pelas componentes de forma decrescente e independente.
- Redução de multicolinearidade das variáveis de forma que as componentes principais são não correlacionadas entre si, mas são formadas pelas variáveis inter correlacionadas (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

As desvantagens da técnica são:

- Sensibilidade a presença de *outlier* e dados ausentes;
- Sensível a poucas amostras e muitas variáveis;
- Pode ser ineficiente quando há muitas variáveis não correlacionadas (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

Assim, havendo correlação significativa entre as variáveis originais, estas podem ser combinadas em novas variáveis que são capazes de expressar de forma simples, as informações das variáveis originais. Essas novas variáveis são denominadas componentes principais, ou matematicamente autovetores. A primeira componente principal (CP1) é o arranjo principal e a segunda componente principal (CP2) é perpendicular/ortogonais a PC1 (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

Dessa forma, os autovetores são componentes principais não correlacionados e ortogonais entre si. Isso implica que cada autovetor contém uma informação distinta e independe do outro. Cada nova CP tem a capacidade de expressar uma quantidade específica de informação que é expressa pela porcentagem variância explicada. (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

A importância de uma CP é dada pelo percentual de variância a ele atribuído. Em ordem, a CP1 é definida pela variância máxima que as novas variáveis são capazes de descrever e a CP2, ortogonal a CP1, corresponde a maior informação não explicada pela CP1. As demais novas variáveis são ortogonais às anteriores e orientadas de forma a descrever a variância máxima restantes. Em contrapartida, as últimas componentes principais apresentam pouca variância, o que significa que apresentam pouca informação relevante sobre os dados (JOHNSON; WICHERN, 1998; ANDERSON, 2003; FERREIRA, 2011).

Em tese, os passos para se calcular as componentes principais são:

- a) Obter os dados das amostras de dimensão  $n$ ;
- b) Calcular a média ou o vetor médio desses dados;
- c) Subtrair a média de todos os itens de dados;
- d) Calcular a matriz de covariância usando todas as subtrações;
- e) Calcular os autovalores e autovetores de cada matriz de covariância;
- f) Arranjar a matriz da transformada de *Hotelling*;

As CPs podem ser projetadas em gráficos chamados gráficos de escores e gráficos de *loadings*. Os gráficos de escores são a projeção das amostras nas componentes principais, isto é, o valor da amostra no espaço das componentes. Por sua vez, os gráficos dos *loadings* refletem a contribuição das variáveis originais em cada CP, onde quando maior em módulo o valor o *loadings* mais relevante é aquela variável. Assim, o estudo conjunto de escores e *loadings* permite visualizar e relacionar quais variáveis contribuíram para aquele padrão observado (HONGYU, 2015; REGAZZI, 2000).

#### 3.3.4 Verificação de anomalias

Como citado, a análise de PCA é sensível à presença de *outlier*. Dessa forma, para se obter um perfil fidedigno é necessário remover amostras consideradas erros grosseiros e anômalos. Uma das formas de se identificar a presença de *outlier* em um conjunto de amostras são através da análise de  $Q$  (resíduos) e  $T^2$  de *Hotelling*. Essa ferramenta permite a visualização gráfica de *outlier* em um conjunto de dados com certo nível de significância. Assim, o valor crítico é calculado com a suposição que os escores apresentam uma distribuição normal, onde representa o nível de significância adotado, neste caso 5%. Quanto à interpretação, as amostras que apresentarem simultaneamente valores de resíduos  $Q$  e  $T^2$  de *Hotelling* acima dos valores críticos serão consideradas anômalas pelo modelo e, conseqüentemente, devem ser excluídas e o teste refeito (SANTANA, FELIPE BACHION DE SOUZA et al., 2020).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das amostras

Cinco marcas de café Arábica foram adquiridas no comércio local, sendo duas delas em grãos e três em pó. As amostras de café Robusta foram fornecidas pela professora Vanessa Moreira Osório do Departamento de Química e Física da Universidade Federal do Espírito Santos, sendo quatro amostras do tipo exportação (grãos selecionados manualmente) e quatro amostras de grãos não selecionados. Todas as amostras de café Robusta são de produtores da região do Espírito Santo.

### 4.2 Preparo das amostras

As amostras em grão foram moídas em triturador *Super Mix Fun Kitchen®* e nesse processo foi adicionado ao triturador 10 g de café em grãos e o tempo de moagem foi de um minuto. Para extração,  $0,50 \pm 0,01$  g de amostra foi adicionado ao tubo de ensaio com 10,00 mL de água destilada e o tubo foi mantido em banho maria a  $90^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos. Posteriormente, as amostras foram filtradas e submetidas a resfriamento ( $2 - 8^{\circ}\text{C}$ ) até análise. Para a análise por ESI-MS as amostras foram diluídas em metanol na proporção 1:9.

Para o preparo das adulterações foi feito um *pool* com as amostras de café 100% Arábica em pó e um *pool* com as amostras 100% Robusta em pó, isso para aumentar a variabilidade das misturas que foram preparadas usando os *pools*. As porcentagens de café Robusta no café Arábica foram de  $5,91\%m.m^{-1}$ ,  $10,50\%m.m^{-1}$ ,  $20,40\%m.m^{-1}$ . Todas as amostras foram preparadas em triplicatas, sendo 5 amostras de café 100% Arábica, 8 amostras 100% Robusta e 3 amostras de misturas.

**Tabela 3 - Identificação das amostras**

Amostra	ID	Massa	Amostra	ID	Massa
100% R-TP -1	1	0,499	100% A-G - 1	25	0,501
	2	0,504		26	0,500
	3	0,500		27	0,498
100% R-TP -2	4	0,504	100% A-G - 2	28	0,501
	5	0,498		29	0,500
	6	0,505		30	0,499
100% R-TP -3	7	0,503	100% A-P - 1	31	0,505
	8	0,500		32	0,503
	9	0,501		33	0,499
100% R-TP -4	10	0,500	100% A-P - 2	34	0,503
	11	0,498		35	0,497
	12	0,501		36	0,498
100% R-C -1	13	0,504	100% A-P - 3	37	0,501
	14	0,499		38	0,502
	15	0,501		39	0,497
100% R-C -2	16	0,505	Mistura 1	40	0,493
	17	0,498		41	0,502
	18	0,502		42	0,501
100% R-C -3	19	0,501	Mistura 2	43	0,502
	20	0,505		44	0,500
	21	0,500		45	0,499
100% R-C -4	22	0,498	Mistura 3	46	0,495
	23	0,500		47	0,500
	24	0,501		48	0,501

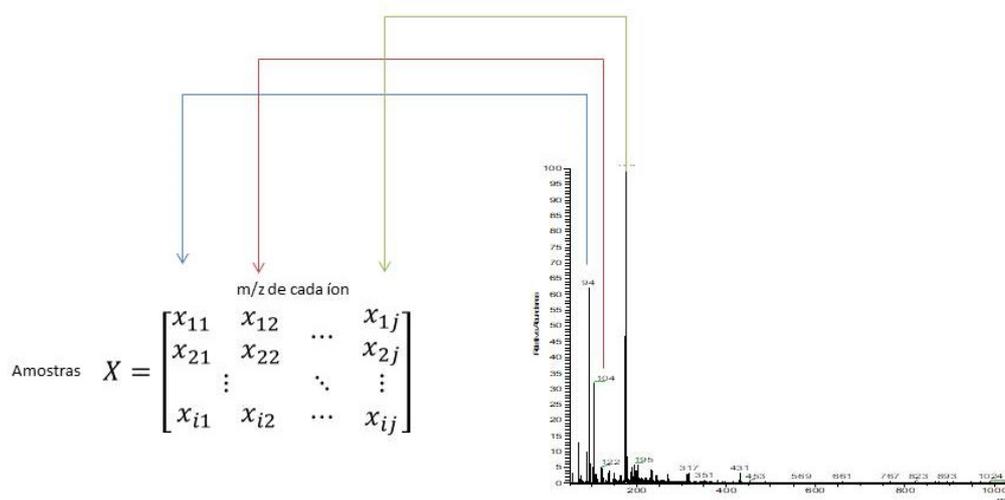
Legenda: Id - Identificação; R-TP - Robusta Tipo Exportação; R-C - Robusta Comum; A-G - Árábica em Grão; A-P Árábica em Pó.

### **4.3 Análise por espectrometria de massas com ionização *electrospray* - ESI-MS**

Os espectros de massas foram adquiridos no espectrômetro de massas com ionização *electrospray* e analisador *íon trap* (*LCQ-Fleet, Thermo-Scientific*). As amostras foram diluídas com metanol 1:9 e injetadas por meio de uma seringa (*Hamilton 500 µL*) com fluxo de 20 µL.min<sup>-1</sup>. A tensão aplicada para a formação do *electrospray* foi de aproximadamente + 5kV e -5kV para os modos positivo e negativo, respectivamente, a temperatura do gás de dessolvatação foi de 275 °C.

#### 4.4 Análise de componentes principais

Os dados foram exportados para o Excel no qual foram construídas duas matrizes por conjunto de amostras utilizando a razão massa/carga (*m/z*) dos íons e suas respectivas intensidades, sendo uma para o modo positivo e outra para o modo negativo, conforme demonstrado na figura 11. Dessa forma, as amostras são representadas pelas linhas, enquanto as colunas representam o *m/z* do espectro de massas, sendo que o valor de entrada na matriz foi a intensidade relativa de cada *m/z*. Os dados foram centrados na média e submetidos ao processamento de análise de componentes principais utilizando se o software *Matlab R2010 e PLS toolbox 5.2.2*.



**Figura 11 - Representação da inserção de dados espectrais na matriz X**

Fonte: FILHO, (2010) modificado.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise dos espectros de massa das amostras de café 100% Arábica e café 100% Robusta

#### 5.1.1 Espectro de massas com ionização *electrospray* no modo positivo

Na figura 12 são apresentados os espectros obtidos como resultado da espectrometria de ionização por *electrospray* no modo positivo para as amostras de café Arábica e Robusta.

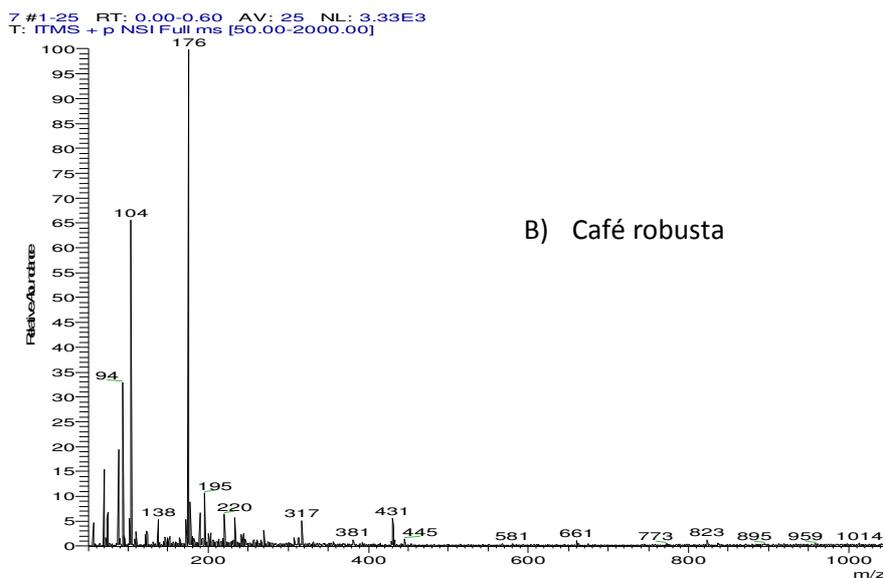
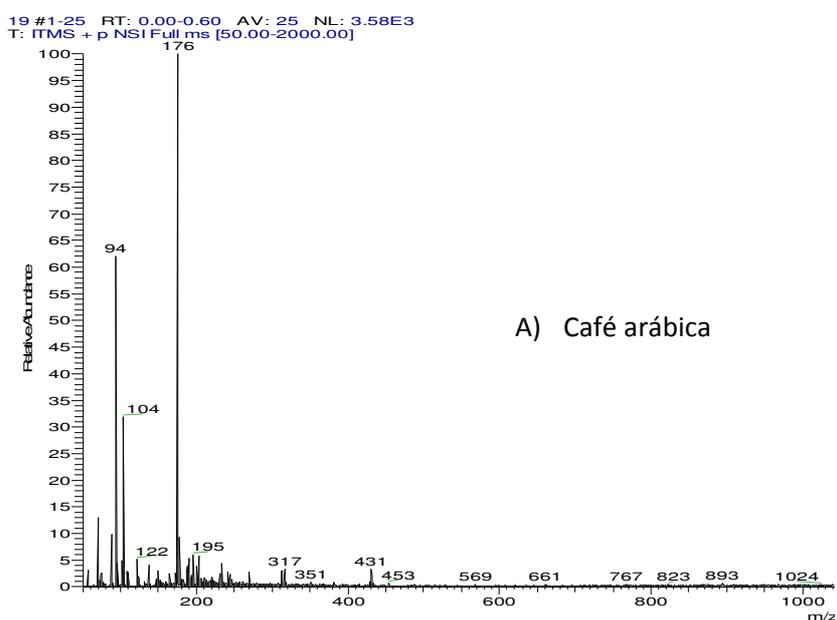


Figura 12 -ESI(+)- MS do café Arábica (12a) e Robusta (12b) puros.

Os espectros das amostras de café Arábica são praticamente iguais entre si e o mesmo foi observado nos espectros de café Robusta. Os espectros foram adquiridos em uma faixa de  $m/z$  50 a 2000, mas acima de 1000 não foi observado íons em nenhuma das amostras e por isso essa faixa foi excluída da figura. Os espectro no modo positivo (ESI(+)-MS) para o café Arábica e Robusta apresentam quantidade similar de sinais, sendo cerca de 10 e 11 sinais, respectivamente.

Os íons  $m/z$  94, 104 e 176 apresentam intensidade semelhante nos dois tipos de café. Os íons  $m/z$  122, 351, 453, 569 foram observados nos ESI(+)-MS do café Arábica e os íons  $m/z$  138, 220, 381, 445 foram observados no café Robusta, conforme descrito no quadro 4.

**Quadro 4 - Sinais detectados no ESI(+)-MS para as amostra de café Arábica e Robusta pura**

<b>Amostra</b>	<b>Razão massa/carga (<math>m/z</math>)</b>
Café Arábica	94 (metilpiridínio protonado), 104(NI), 122 (NI), 138 (trigonelina protonada), 176 (aduto de potássio de trigolenina), 195 (cafeína protonada), 317 (NI), 351 (NI), 431(NI), 453, (NI), 569 (Luteína)
Café Robusta	94 (metilpiridínio protonado), 104 (NI), 176 (adulto de potássio da trigolenina), 195 (cafeína), 220 (NI), 317 (NI), 381 (adulto de potássio da sacarose), 431(NI), 445 (NI)

Legenda: NI: Não Identificado

No ESI(+)-MS, os principais íons detectados são moléculas protonadas ou adutos de sais como potássio. O íon  $m/z$  195 (M+H)<sup>+</sup> observado no espectro foi atribuído a molécula de cafeína protonada; os íons  $m/z$  138 (M+H)<sup>+</sup> trigonelina protonada, 176 (M+K)<sup>+</sup> e  $m/z$  381 (M+K)<sup>+</sup> são relativos a adultos de potássio das moléculas trigonelina e sacarose, respectivamente, conforme apresentado por Amorim et al. (2009). O íon  $m/z$  94 (M+H)<sup>+</sup> também já foi observado em outros trabalhos e atribuído a molécula de metilpiridina protonada proveniente da degradação da Trigonelina sob alta temperatura e por isso comum em espectros de café torrado (AMORIM et al., 2009). Em alguns ESI(+)-MS foi observado com intensidade bem pequena o íon  $m/z$  569

(M+H)<sup>+</sup> referente a Luteína protonada um carotenoides presente no café (ESQUIVEL et al., 2020).

### 5.1.2 Espectro de massas com ionização electrospray no modo negativo

Na figura 13 são apresentados os espectros de massas com ionização por *electrospray* no modo negativo (ESI(-)-MS) para os cafés Arábica e Robusta.

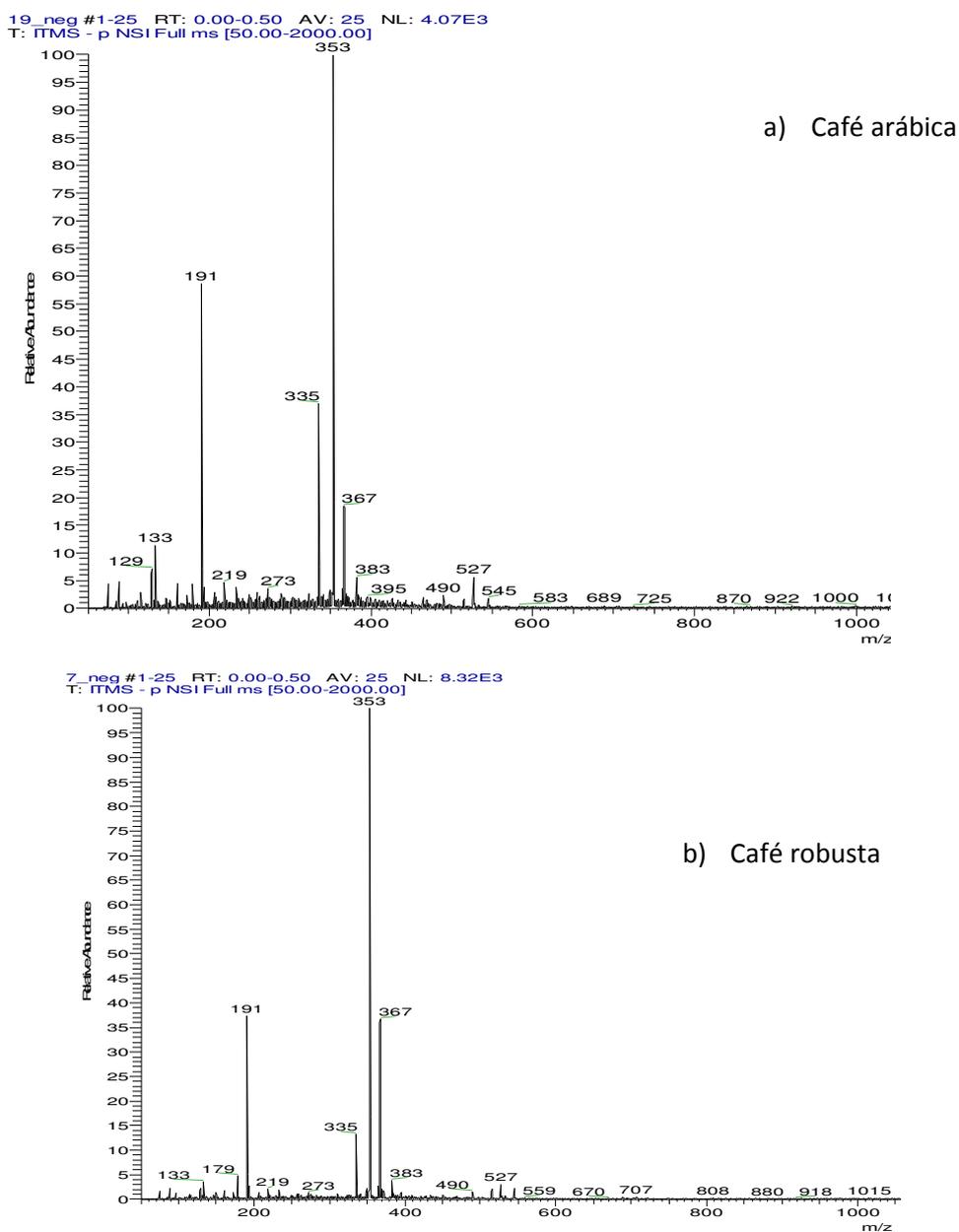


Figura 13 - ESI(-)-MS do café Arábica (11a) e Robusta (11b) puros.

Para o modo negativo também fez a aquisição dos dados até  $m/z$  2000, mas não foi observado sinais na região ocultada dos espectros e os espectros dos dois tipos de café são bastante semelhantes como foi observado na figura 13. Os íons  $m/z$  133, 191 e 335 possuem maior intensidade nas amostras de café Arábica e foram atribuídos aos ácidos málico, quínico (AQ) e cafeoilchiquímico (ACC), respectivamente. O íon  $m/z$  353, íon de maior intensidade em todas as amostras, foi atribuído ao ácidos cafeoilquínico (ACQ) e/ou isômeros dele e o íon  $m/z$  367 que possui maior intensidade nas amostras de café Robusta foi atribuído ao ácido feruloilquínico (AFQ) (AMORIM et al., 2009). Alguns íons não foram identificados, mas foram citados no quadro 5, onde foi feito um resumo dos íons observados nos ESI(-)-MS da figura 13. GARRETT, VAZ, HOVELL et al. (2012) também observaram que os íons  $m/z$  191, 353 e 367 em ESI(-)-MS de extrato aquoso de cafés Arábica e Robusta corroborando com a Figura 13 e quadro 5.

**Quadro 5 - Sinais detectados no ESI(-)-MS para as amostra de café Arábica e Robusta pura**

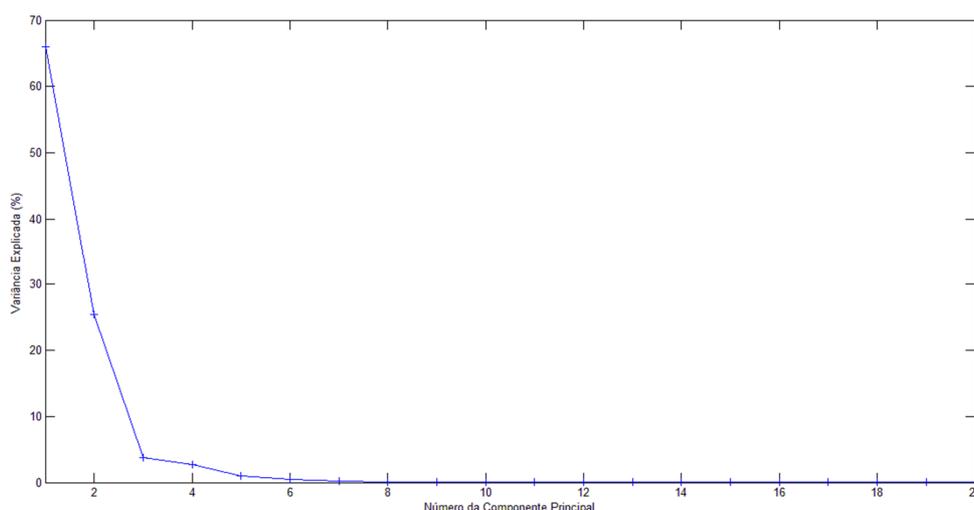
<b>Amostra</b>	<b>Razão massa/carga (<math>m/z</math>)</b>
Café Arábica	129(NI), 133 (ácido Málico), 191 (Ácido quínico), 219 (NI), 273 (NI), 335 (Ácido cafeoilchiquímico), 353 (Ácido cafeoilquínico), 367 (Ácido feruoilquínico), 383 (NI), 395 (Acetil-ACQ), 490 (NI), 527 (NI)
Café Robusta	133 (ácido Málico), 179 (Glicose), 191 (Ácido quínico), 219 (NI), 273 (NI), 335 (Ácido cafeoilchiquímico), 353 (Ácido cafeoilquínico), 367 (Ácido feruoilquínico), 383 (NI), 490 (NI), 527 (NI)

Legenda: NI: Não Identificado

## 5.2 Análise de componentes principais aplicados para diferenciação de amostras de café 100% Arábica e 100% Robusta

### 5.2.1 Modo positivo

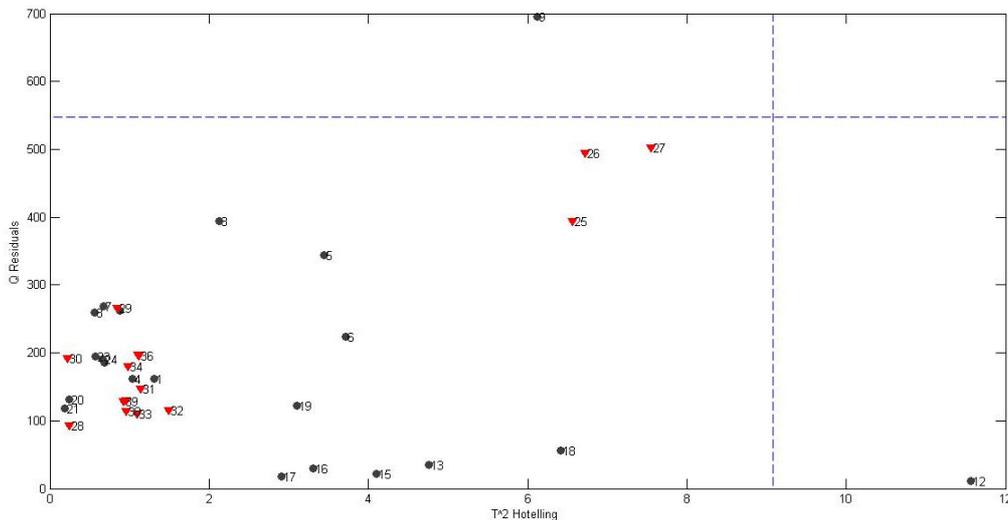
Os dados dos ESI(+)-MS foram centrados na média e construiu-se um modelo PCA. Com três CPs o modelo explica 95,17% da variância dos dados e a escolha do número de componentes foi feita através do gráfico de variância explicada x componente (Gráfico 5). A quarta componente não agrega muita informação ao modelo, então a escolha de três componentes é mais adequada para não ser incluído informação de ruído que pouco contribui para explicação do comportamento das amostras. Dessa forma, as informações mais relevantes já estão contidas nas três primeiras CPs.



**Gráfico 5 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(+)-MS**

O gráfico 6, Q residual x  $T^2$  Hotelling, foi usado na identificação de *outlier*, uma amostra que seja provável *outlier* é uma amostra com alto resíduo, acima do valor crítico, e alto  $T^2$  de Hotelling, acima do valor crítico. Uma amostra com alto resíduo significa que foi mal modelada e o valor alto de  $T^2$  significa alta influência e uma amostra não pode ser mal modelada e apresentar grande influência no modelo. Como pode ser observado no gráfico

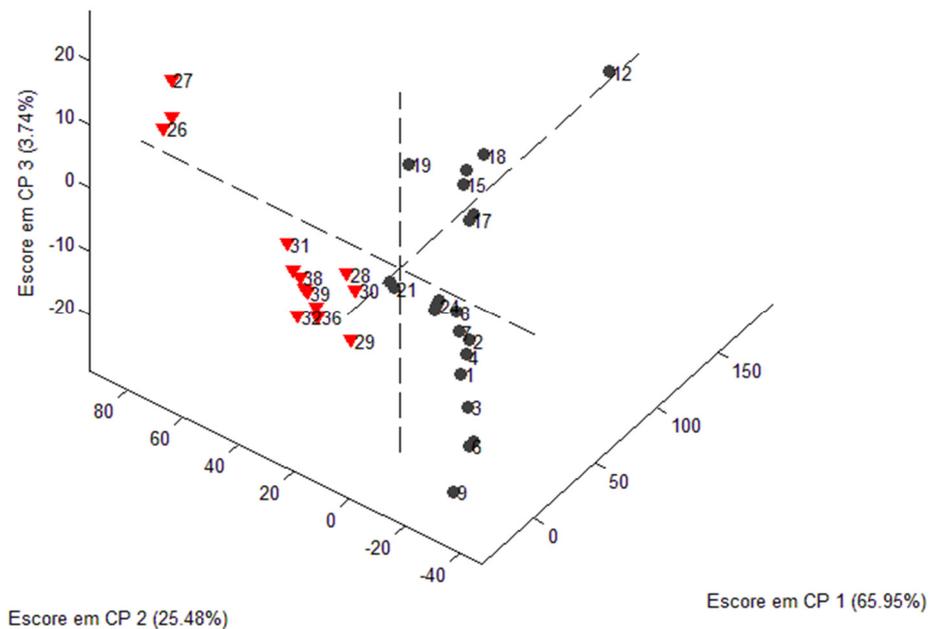
6, para esse conjunto de amostras não foram observados *outliers*, pois não há amostras que simultaneamente estejam acima dos valores limites de Q residual (linha tracejada no eixo da ordenada) e  $T^2$  Hotelling (linha tracejada no eixo da abcissa).



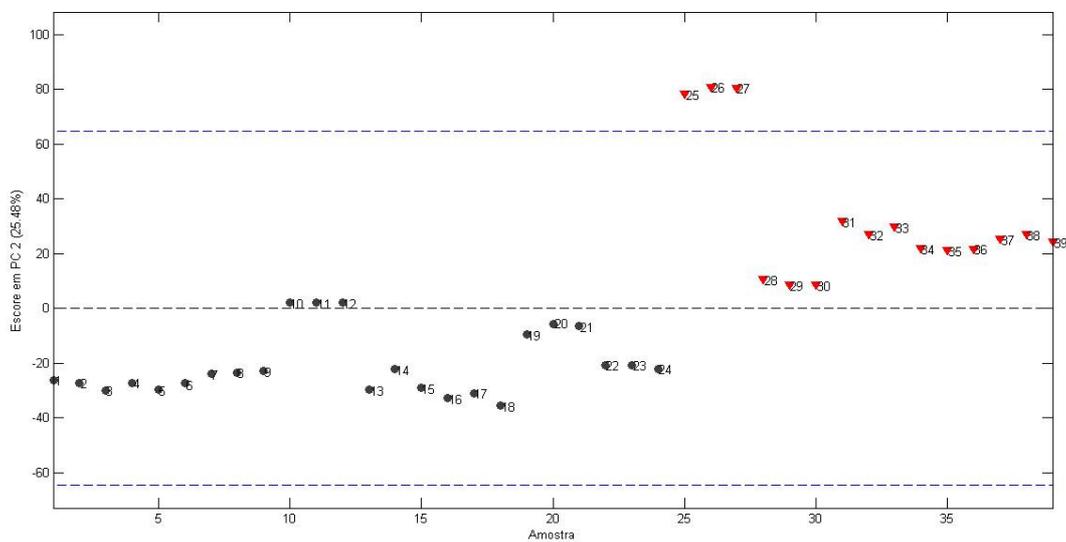
**Gráfico 6 - Resíduos Q versus Hotelling  $T^2$  dos dados dos ESI(+)-MS**

Legenda: Preta: amostras de café Robusta (1-24), Vermelha: amostras de café Arábica (25-39).

No gráfico 7, gráfico de escores é mostrado a separação (diferenciação) entre as amostras 100% Arábica e 100% Robusta e a variância explicada por cada CPs. Como pode ser observado no gráfico, a CP1 contém a maior informação dos dados, mas ela não é a CP que melhor separa as amostras e isso aconteceu, pois a informação contida na CP1 não estava relacionada à separação entre Arábica e Robusta. A componente que melhor separa as amostras é a CP2, como pode ser observado no gráfico 8, escores na CP2 x amostra; as amostras com escores menores são de café Robusta e as amostras com escores maiores são de café Arábica. As amostras 1 a 12 são Robusta tipo exportação e as amostras 13 a 24 são Robusta Comum e não houve diferenciação entre elas.



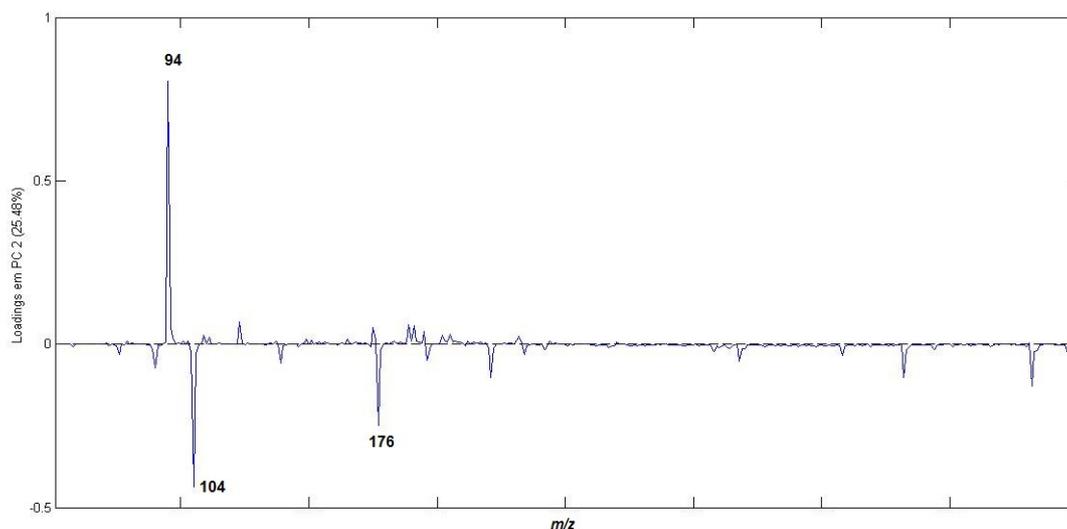
**Gráfico 7 – Modelo PCA construído com os dados ESI(+)-MS.**  
 Legenda: Preta: amostras de café Robusta (1-24), Vermelha: amostras de café Arábica (25-39).



**Gráfico 8 - Escores na CP 2 x amostra, amostras pretas (% Robusta) e vermelhas (%vermelhas)**

Podemos observar que a CP2 apresenta as variáveis mais importantes, uma vez que ao projetar as amostras nesta CP podemos observar o agrupamento das amostras de café Arábica (vermelho) separado das amostras de café

Robusta (preto). As variáveis associadas a essa componentes estão no gráfico (9) de *loadings* da CP2 e quanto maior o valor, em módulo, maior a importância para a componente.

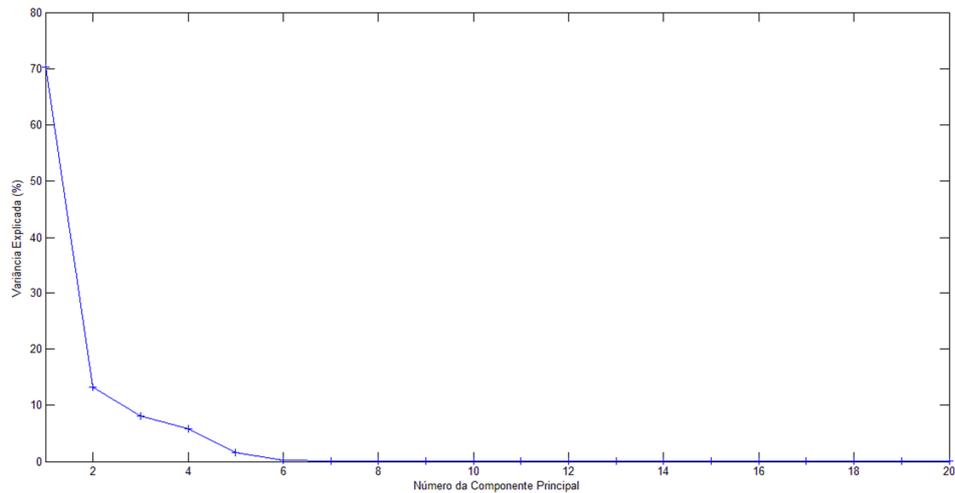


**Gráfico 9 - *Loadings* em CP 2 dos dados do ESI(+)-MS- Amostras puras**

Neste gráfico podemos observar os sinais mais intensos, relativos aos íons com  $m/z$  de 94 (metilpiridínio protonado), 104 e 176 (adulto de potássio de trigoleína), responsáveis pela separação das amostras (AMORIM et al., 2009; DA ROSA, 2016).

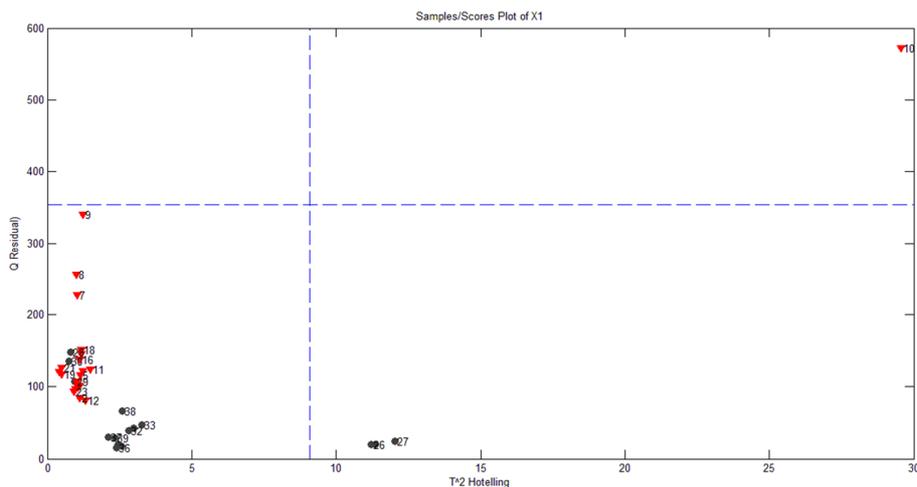
### 5.2.2 Modo negativo

O modelo construído com os dados dos ESI(-)-MS tem três CPs e explica 91,41% da variância dos dados, gráfico 10. Assim, optou-se por considerar apenas três componentes principais devido à grande parcela de informação explicada por elas (mais que 90%) e que já foi suficiente para observar os agrupamentos.



**Gráfico 10 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(-)-MS – Amostras puras**

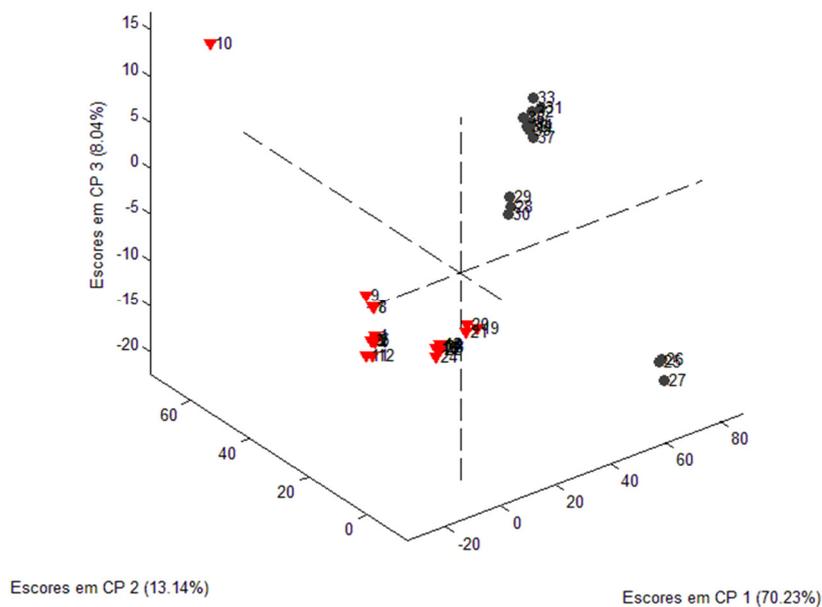
Através da análise Q residual x  $T^2$  Hotelling, gráfico 11, observasse que uma amostra (amostra 10) comportou se como *outlier*. No entanto, uma vez que as análises foram feitas em triplicata, e este comportamento não foi reproduzido para as demais triplicatas, foi concluído que esse resultado pode ser consequência de desvio durante o processo de preparo de amostra ou desvio inerente as variações eletrônicas do equipamento. Dessa forma, essa amostra pode ser retirada sem prejuízo dos resultados.



**Gráfico 11 - Resíduos Q versus Hotelling T² dos dados dos ESI(-)-MS– Amostras puras**

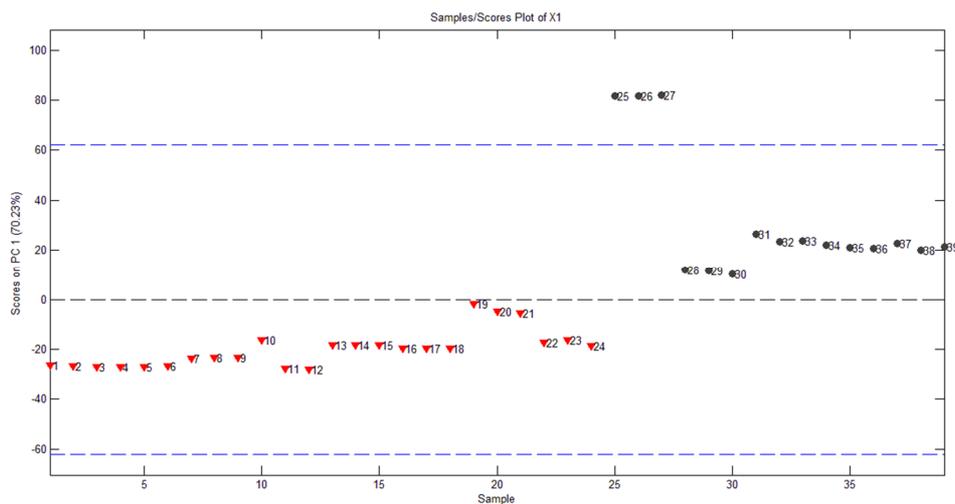
Legenda: Preta: amostras de café Robusta (1-24), Vermelha: amostras de café Arábica (25-39).

Analisando se o gráfico 12, gráfico dos escores, é possível observar o agrupamento das amostras de café Robusta (1-24) e Arábica (25-39) e a CP1, que explica mais de 70% da variância, sozinha já consegue mostrar essa distinção. No gráfico 13, escores x amostras, confirma-se que a CP1 tem informação suficiente para diferenciar os dois grupos, observasse que as amostras de café Robusta apresentam escores menores e a amostra de café Arábica apresenta escores maiores, mas não foi possível a distinção entre as amostras de cafés Robustas tipo exportação (1 a 12) e amostras Robusta tipo comum (13 a 24).



**Gráfico 12 -Gráfico de escores, construído com as três primeiras componentes principais, obtidos a parti dos dados do ESI(-)-MS- Amostras puras**

Legenda: Preta: amostras de café Robusta (1-24), Vermelha: amostras de café Arábica (25-39).

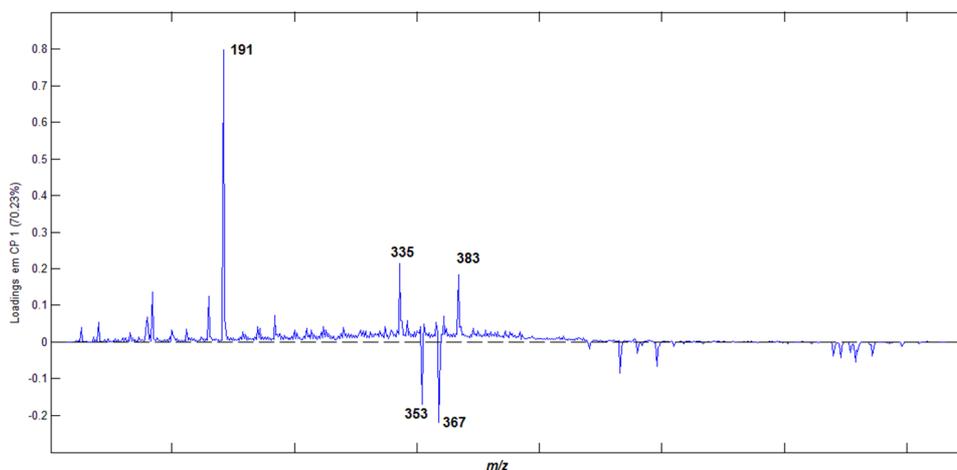


**Gráfico 13 - Escores da componente principal 1 dos ESI(-)-MS- Amostras puras**

Legenda: Preta: amostras de café Robusta (1-24), Vermelha: amostras de café Arábica (25-39).

Como já observado a CP1 conseguiu diferenciar os grupos e por isso é importante estudar as variáveis originais que mais contribuíram a sua construção.

As variáveis associadas a primeira componente principal estão apresentadas no gráfico 14. O maior *loading* refere-se ao íon  $m/z$  191 (ácido quínico), 335 (ácido cafeoilchiquímico), seguido do íons  $m/z$  367 (Ácido feruoilquínico, ),  $m/z$  353 (Ácido cafeoilquínico), e  $m/z$  383 (AMORIM et al., 2009; CORREIA, 2016).

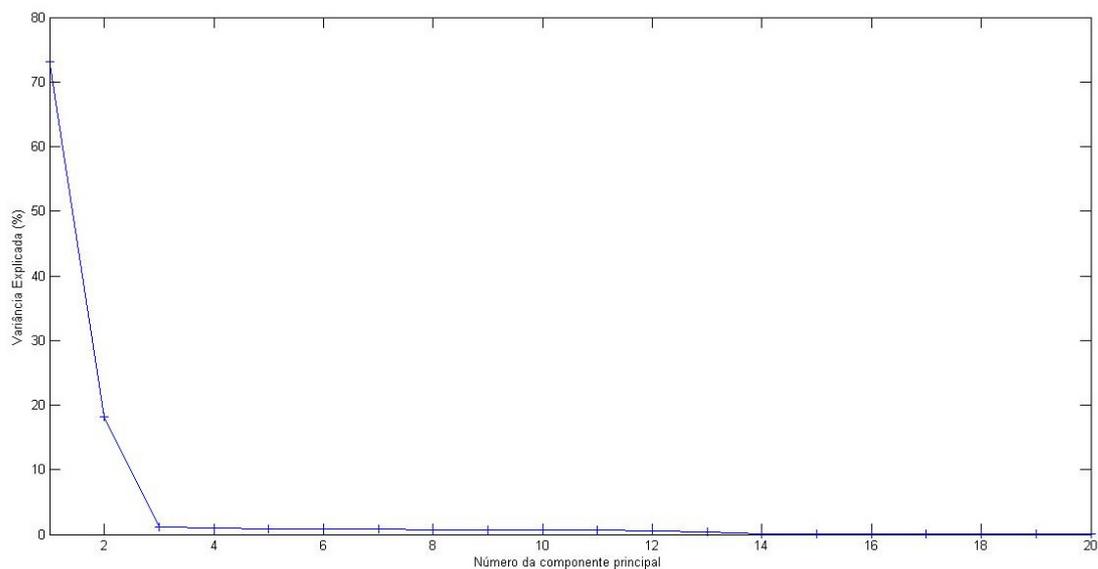


**Gráfico 14 -Loadings em CP 1 dos dados do ESI(-)-MS- Amostras puras**

## **Análise de componentes principais aplicados para diferenciação entre amostras café 100% Arábica e amostras de café Arábica adulteradas com café Robusta**

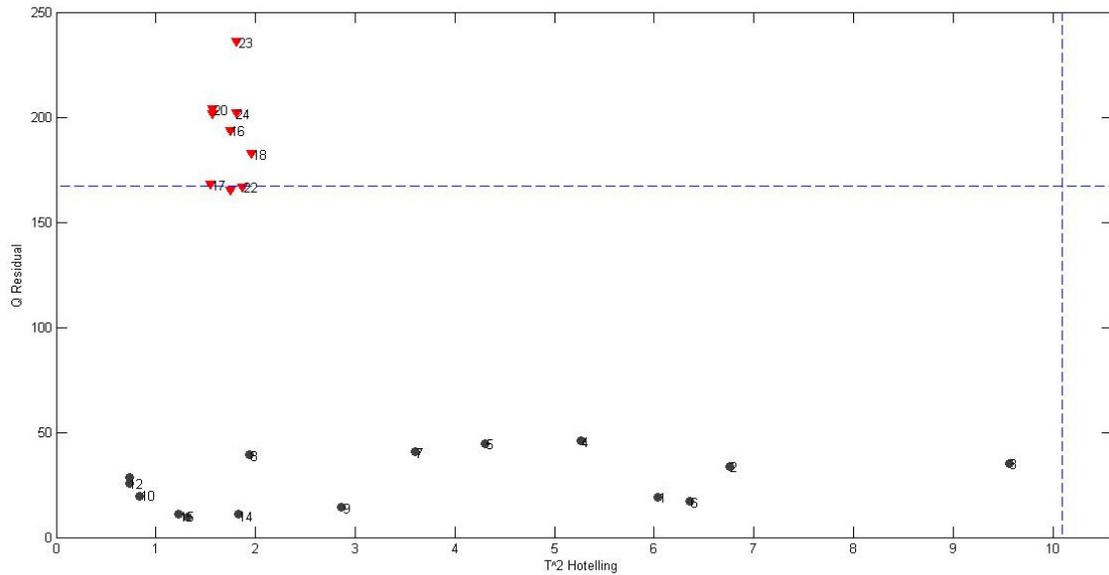
### 5.2.3 Modo positivo

O modelo foi construído com duas CPs que explicaram 92,54% da variância dos dados. Para se fazer a escolha do número de componentes usou-se o gráfico 15, onde pode ser observado que a CP3 apresenta uma variância explicada próxima de zero.



**Gráfico 15 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(+)-MS das amostras adulteradas**

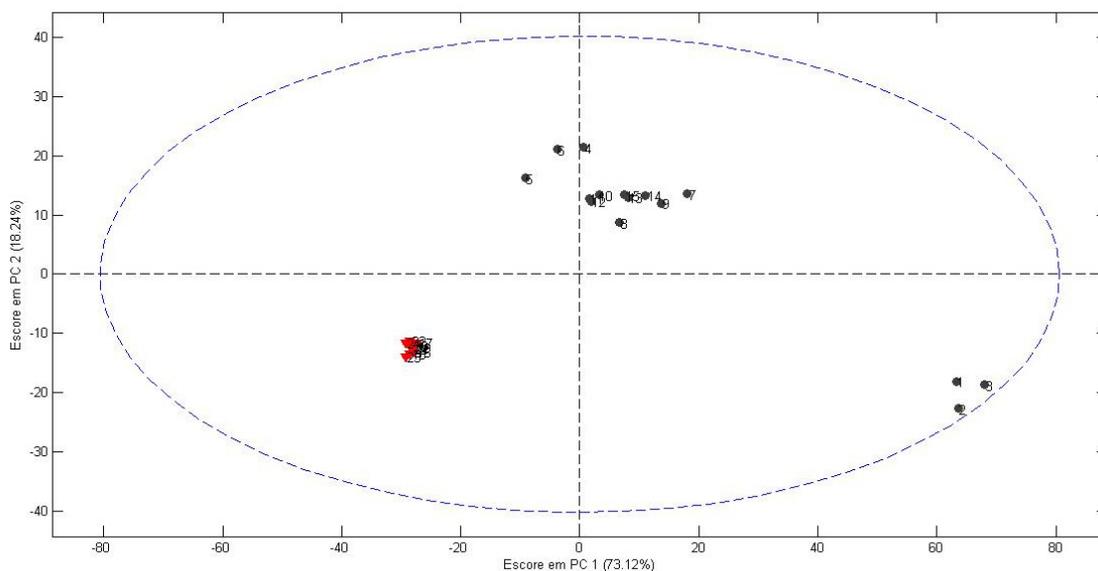
Por meio do teste Q residual x  $T^2$  Hotelling, gráfico 16, verificou se que não há *outlier* dentre as amostras analisadas, uma vez que não há amostras que simultaneamente estejam acima dos valores limites de Q residual e  $T^2$  Hotelling.



**Gráfico 16 - Resíduos Q versus *Hotelling* T<sup>2</sup> dos dados dos ESI(+)-MS das amostras adulteradas**

Legenda: Vermelhas: Amostras adulteradas; Preta: amostras 100% Arábica

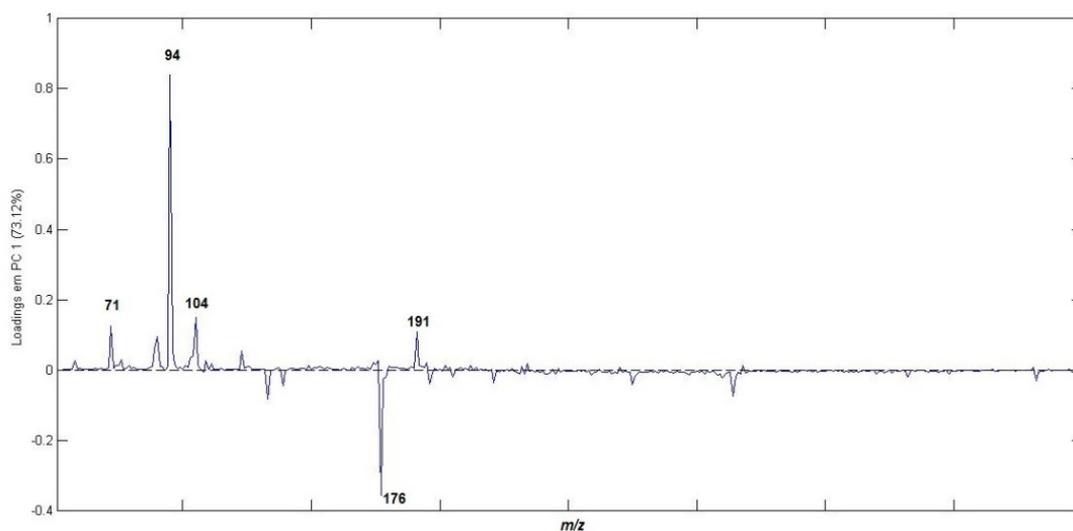
Avaliando se os gráficos dos escores (gráfico 17) construídos com as duas primeiras componentes principais, CP1 x CP2, verifica se que há a diferenciação entre as amostras puras e as adulteradas, tanto em CP 1 como em CP 2. No entanto, não houve diferenciação evidente dentre as amostras adulteradas quanto ao quantidade de adulterante, mas isso pode ter ocorrido devido ao número reduzido de amostras e também porque elas são muito semelhantes entre si, pois foi usado a mesmo *pool* de café Arábica e a mesmo *pool* de café Robusta no preparo das amostras adulteradas.



**Gráfico 17 - Gráfico de escores, construído com as duas primeiras componentes principais, obtidos a partir dos dados do ESI(+)-MS das amostras adulteradas**

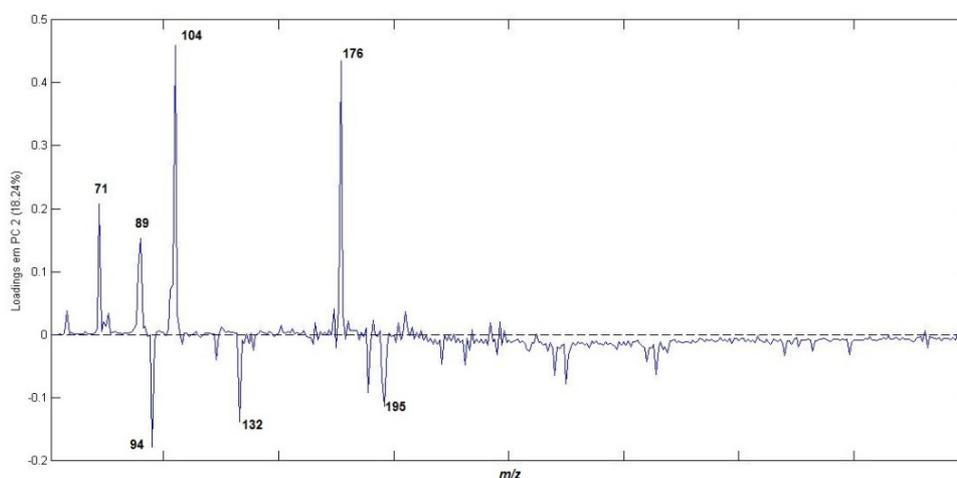
Legenda: Vermelhas: Amostras adulteradas; Preta: amostras 100% Arábica

Uma vez que CP1 e CP2 foram importantes na distinção das amostras, no gráfico 18 e 19 estão apresentando as variáveis que mais influenciam cada uma dessas componentes, respectivamente.



**Gráfico 18 - Loadings da CP 1 dos dados do ESI(+) obtido a partir das amostras adulteradas**

As variáveis que mais influenciaram a CP1 são os íons  $m/z$  94 e 176. Estes correspondem a metilpiridínia protonado e trigonelina, respectivamente. Seguindo se tem os íons  $m/z$  104, 71 e 191 (GARRETT et al., 2012).

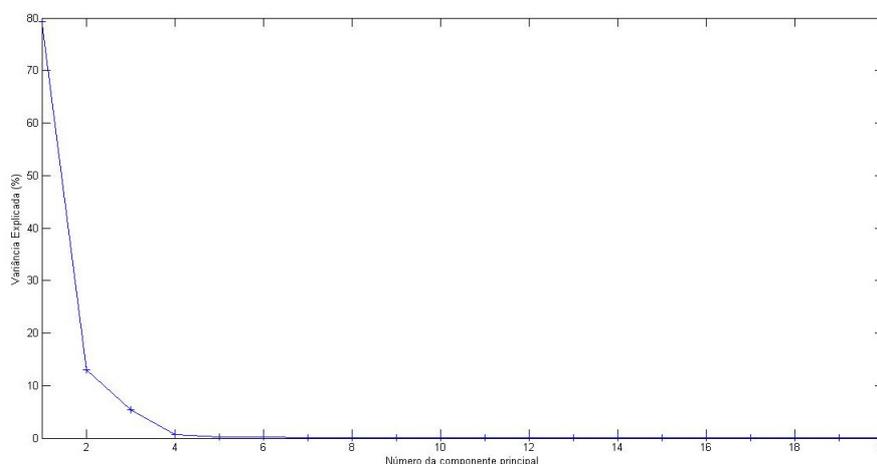


**Gráfico 19 - Loadings da CP 2 dos dados do ESI(+) obtido a partir das amostras adulteradas**

Os íons que apresentam maior peso na CP2 são os íons 104, 176 (adulto de potássio de trigonelina), 94 (metilpiridínia protonado), 71, 89 e 132. (GARRETT et al., 2012). Em soma, esses íons são capazes de realizar a distinção do café 100 % Arábica e o café adulterado.

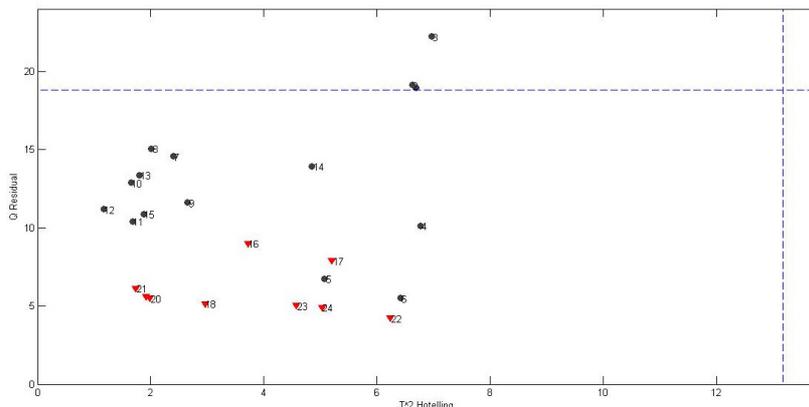
#### 5.2.4 Modo negativo

O modelo foi construído com quatro CPs e explica 98,53% da variância dos dados e para a escolha do número de componentes foi usado o gráfico 20.



**Gráfico 20 - Variância explicada das componentes principais obtidos a partir dos dados dos ESI(-)-MS - Amostras adulteradas**

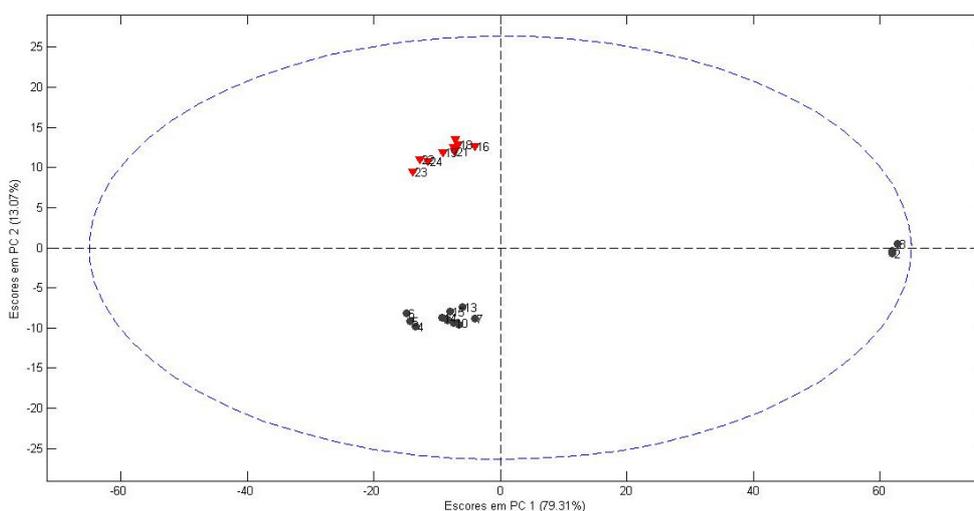
Por meio do teste Q residual x T2 Hotelling verificou que não há *outlier* dentre as amostras analisadas, conforme demonstrado no gráfico 21.



**Gráfico 21 - Resíduos Q versus *Hotelling T*<sup>2</sup> dos dados dos ESI(-)-MS- Amostras adulteradas**

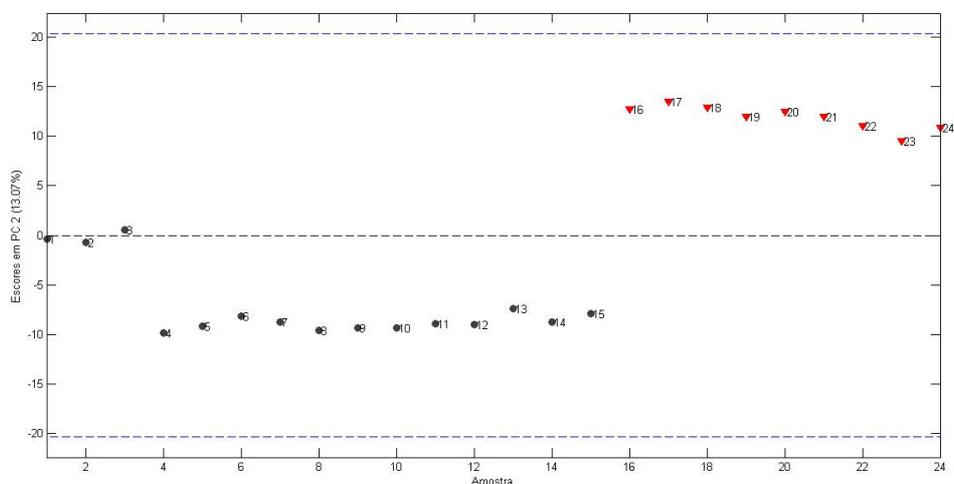
Legenda: Vermelhas: Amostras adulteradas; Preta: amostras 100% Arábica

Avaliando os gráficos dos escores (gráfico 22) construído com as duas primeiras componentes principais, CP1X CP2, verifica se a componente mais importante na separação é CP2 e mais uma vez não houve diferenciação evidente no grupo das amostras adulteradas quanto a concentração do adulterante.



**Gráfico 22 - Gráfico de escores, construído com as duas primeiras componentes principais, obtidos a parti dos dados do ESI(-)-MS- Amostras adulteradas**

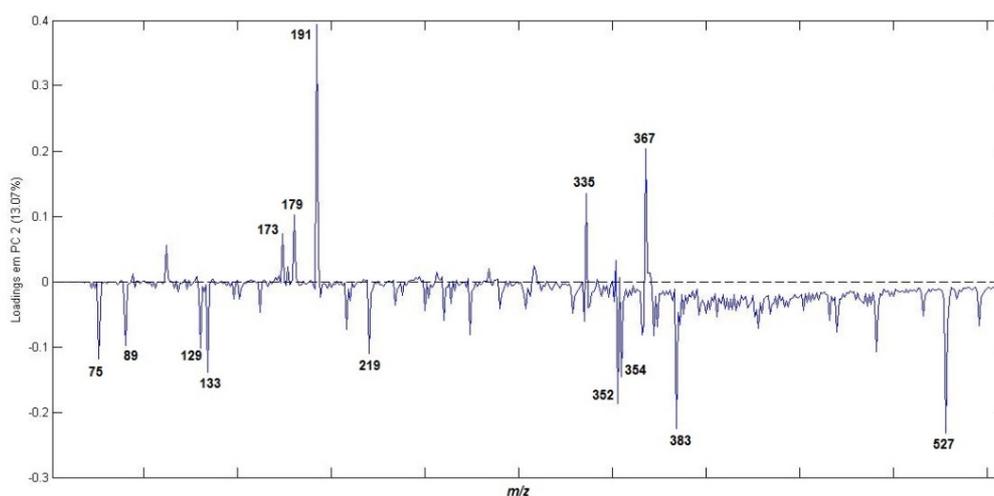
O gráfico 23 reforça a distinção as amostras em CP2, sendo que as amostra adulteradas apresenta *loadings* maiores do que as amostras não adulteradas.



**Gráfico 23 - Escores construído com a CP 2 obtidas do ESI(-) - amostras adulteradas**

Legenda: Vermelhas: Amostras adulteradas; Preta: amostras 100% Arábica

De acordo com o gráfico 24, as variáveis que apresentam maior peso a CP2 são os íons  $m/z$  191 (ácido quínico), 335 (ácido cafeoilchiquimico ou cafeoilquinida), 357 e 383 (GARRETT et al., 2012).



**Gráfico 24 - Loadings da CP 2 dos dados do ESI(-) obtido a partir das amostras adulteradas**

## 6. CONCLUSÃO

A espectrometria de massas com ionização por *electrospray* mostrou-se uma técnica valiosa para o controle de qualidade de cafés Arábica e Robusta. A metodologia foi realizada com um pequeno preparo de amostras e a técnica utilizada permitiu uma rápida aquisição de dados. Com dos dados foram construídos modelos PCA e obteve-se a clara distinção entre as amostras de cafés 100% Arábica e 100% Robusta, além dos modelos que mostraram a separação entre amostras 100% Arábica e amostras de café Arábica adulteradas com café Robusta. Não foi possível realizar a distinção dentro do grupo de amostras adulteradas quanto as diferentes concentrações. Os íons mais importantes na distinção entre os grupos foram os íons dos compostos ácido químico, ácido cafeoilchiquímico, ácido feruloilquínico, ácido esteárico, ácido cafeoilquínico, ácido malônico, glicose, metilpiridina e trigonelina.

Diante disso, propõem-se para trabalhos um aumento no número de amostras, além de uma ampliação da faixa de adulterações para a construção de modelos de análise supervisionada e de calibração multivariada, para assim tentar classificar a amostra como adulterada e quantificar a porcentagem dessa adulteração.

## 7. REFERÊNCIAS

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ. **A História do Café\_ Origem e Trajetória**. Chapecó, 2021. Disponível em: <<https://sbirt.ibict.br/dhttps://docplayer.com.br/11576648-A-historia-do-cafe-origem-e-trajetoria.html>>lossie-  
tecnico/downloadsDT/MTk=>

ALVES, R. C.; CASAL, S. BENEFÍCIOS DO CAFÉ NA SAÚDE: MITO OU REALIDADE? v. 32, n. 8, p. 2169–2180, 2009.

AMORIM, A. C. L. et al. Green and roasted Arabica coffees differentiated by ripeness, process and cup quality via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 313–321, 2009.

AMORIM, H. V. et al. Estudos sobre a alimentação mineral do cafeeiro XXVII. Efeito da adubação N, P e K no teor de macro e micro nutrientes do fruto e na qualidade da bebida do café. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 30, n. 0, p. 323–333, 1973.

ASSAD, E. D. et al. Identificação de impurezas e misturas em pó de café por meio de comportamento espectral e análise de imagens digitais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 211–216, 2002.

BASSETTO, P.; CAMPUS, U.; MOURÃO, D. C. Processo produtivo do café torrado e moído. p. 1–8, 2016.

CARVALHO, V. D. DE et al. Relação entre a composição físico-química e química do grão beneficiado e a qualidade de bebida do café. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p. 449–454, mar. 1994.

CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. **Principles and methods in Coffea plant breeding: Coffea canephora Pierre**. Coffea: Ag ed. London: [s.n.]. v. 3

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffe - Chemistry**. 1. ed. London:

Springer, Dordrecht, 1985.

COLE, R. B. **Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, and Applications**. John Wiley ed. New York: [s.n.].

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB). Acompanhamento da Safra Brasileira - CAFÉ Quarto levantamento | DEZEMBRO 2020. **Observatório Agrícola**, v. 5, n. 6, p. 1-45, dez. 2020.

CONAB. **Análise mensal: Junho/Julho 2020** Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira - CAFÉ Segundo levantamento | MAIO 2021. **Observatório Agrícola**, v. 8, n. 2, p. 1-63, 2021.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira: Café Safra 2021 4º Levantamento. **Boletim da Safra 2021 de café**, v. 8, p. 59, 2021.

CORADI, P. C.; BORÉM, F. M.; OLEIVEIRA, J. A. **Processamento , secagem e armazenamento na qualidade de cafés**. Novas Edições. [s.l.: s.n.].

CORREIA, R. M. **Perfil químico do Café Capixaba Conilon & Arábica por ESI(-)FT-ICR MS e ATR-FTIR: uma abordagem quantitativa**. [s.l.] a Universidade Federal do Espírito Santo, 2016.

COSTE, R. **El café**. Blume ed. Barcelona: [s.n.].

CROTTI, A. E. M. et al. Espectrometria de massas com ionização por "electrospray": processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 287-292, 2006.

DA ROSA, J. S. **Utilização de análises físico-químicas, técnicas**

**cromatográficas e de espectrometria de massas na caracterização do perfil químico de grãos de café (Coffea arabica L) submetidos a gradiente torra.** [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2016.

DINIZ, M. E. R. **Uso da técnica de espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) para o estudo do mecanismo de reações orgânicas e avaliação do perfil de fragmentação de bis-hidroxiiminas aromáticas.** [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais., 2011.

DO NASCIMENTO, E. A. et al. Chemical composition of conilon coffee in different degrees of roasting. **Ciencia y Engenharia/ Science and Engineering Journal**, v. 16, n. 1/2, p. 17–21, 2007.

DOLE, M. et al. **Chemistry Physics**. 49. ed. [s.l: s.n.].

DOMINGUES, L. O. C. et al. Sensory quality prediction of coffee assessed by physicochemical parameters and multivariate model. **Coffee Science**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2020.

DURÁN, C. A. A. et al. Coffee: General aspects and its use beyond drink. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 107–134, 2017.

ELETROBRAS, C. E. B. S. . **Beneficiamento de Grãos de Café**. 1. ed. Rio de Janeiro: Eletrobras, 2015.

ESQUIVEL, P. et al. Coffee (Coffea arabica L.) by-Products as a Source of Carotenoids and Phenolic Compounds—Evaluation of Varieties With Different Peel Color. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, n. October, p. 1–13, 2020.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria Conceitos, métodos e aplicações**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2015.

FILHO, D. B. Aplicação De Métodos Quimiométricos Para a Classificação De Águas Minerais Comercializadas Em Goiânia-Go. **Universidade Federal de Goiás**, p. 61, 2010.

GALANAKIS, C. Handbook of Coffee Processing by -Products Sustainable Applications. In: GALANAKINS, C. M. (Ed.). . **Handbook of Coffee Processing by -Products Sustainable Applications**. ACADEMIC P ed. Chania: [s.n.]. p. 426.

GARRETT, R. et al. Arabica and Robusta Coffees: Identification of Major Polar Compounds and Quantification of Blends by Direct-Infusion Electro spray Ionization–Mass Spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry (USA)**, v. 60, n. 17, p. 4253–4258, 2012.

GARRUTI, R. DOS S.; GOMES, A. G. Influência do Estado de Maturação sobre a Qualidade da Bebida do Café na Região do Vale do Paraíba. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo**, v. 20, p. 990–995, 1961.

HAIR, J. F. et al. Análise multivariada dos dados. In: Rio de Janeiro: Puc-Rio, 2009.

HOFFMANN, E. DE; STROOBANT, V. **Mass Spectrometry - Principles and Applications**. 3º ed. Southern Gate, Chichester: [s.n.].

ILLY, A.; VIANI, R. **Espresso Coffee: the Science of Quality**. 2. ed. London: Academic Press, 2004.

KITZBERGER, C. S. G. et al. Composição química de cafés árabe de cultivares tradicionais e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 11, p. 1498–1506, 2013.

MAIER, H. G. . Grundlagen and Fortschritte der Lebensmitteluntersuchung and Lebensmitteltechnologie. v. 18, 1981.

MAIER, H. G. . Chemical and Technologic des Coffees. Lebensmittelchemie and Geerichtliche Chemic. v. 37, p. 25–29, 1983.

MAPA, MINISTERIO DE ESTADO DA AGRICULTURA, P. E. A. **Instrução normativa nº 8, de 11 de junho de 2003**, 2003. Disponível em: <[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/legislacao/Instrucao\\_Normativa\\_n\\_8.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/legislacao/Instrucao_Normativa_n_8.pdf)>

MAPA. **PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO Brasil 2019 / 20 a 2029 / 30 Projeções de Longo Prazo**. Brasília, DF: [s.n.].

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, v. 8146, n. November, p. 547–554, 1999.

MENDONÇA, L. M. V. L. **Características químicas, físico-químicas e sensoriais de cultivares de Coffea arabica L.** [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2004.

MORAES, I. M. DE. **Dossiê técnico - PROCESSAMENTO DE CAFÉ** Rio de Janeiro REDETEC – Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, , 2006. Disponível em: <<https://sbtr.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MTk=>>

MORAES, M. C. B.; LAGO, C. L. DO. ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR "ELECTROSPRAY" APLICADA AO ESTUDO DE ESPÉCIES INORGÂNICAS E ORGANOMETÁLICAS Maria Carolina B. Moraes. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 556–563, 2003.

MOREIRA, R. F. A. et al. COMPONENTES VOLÁTEIS DO CAFÉ TORRADO. PARTE II. COMPOSTOS ALIFÁTICOS, ALICÍCLICOS E AROMÁTICOS. **QUÍMICA NOVA**, v. 23, n. 2, 2000.

NEHLIG, A. Are we dependent upon coffee and caffeine? A review on human and animal data. **Neurosci Biobehav Rev.**, v. 26, p. 563–576, 1999.

OHIOKPEHAI, O.; BRUMEN, G.; CLIFFORD, M. . Chlorogenic acids content of green coffee beans. **International Scientific Colloquium on Coffee**, p. 177–185, 1982.

OLIVEIRA, G. S. DE. Comparação Química dos Grãos de Café (Coffea Arabica), Sadio e seus Grãos PVA (Pretos, Verdes, Ardidos) oriundos do Sul de Minas e do Cerrado Mineiro, submetidos a Diferentes Graus de Torrefação. p. 101, 2006.

PINHEIRO, P. F. et al. Quality Determinants In Coffee Production. In:

SPRINGER NATURE SWITZERLAND AG (Ed.). . **Quality Determinants In Coffee Production**. Alegre: Food Engineering Series, 2020. p. 1–12.

PIZARRO, C.; ESTEBANDÍEZ, I.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Mixture resolution according to the percentage of robusta variety in order to detect adulteration in roasted coffee by near infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, p. 266–276, 2007.

REIS, D. I. A. Torrado E Moído Com Cascas De Café E Milho Por Espectroscopia No. 2012.

RENA, A. B. et al. Handbook of environmental physiology of fruit crops. Subtropical and tropical crops. **INC**, v. II, p. 101–122, 1994.

RUFINO, J. L. DOS S. **Programa Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento do Café: antecedentes, criação e evolução**. Embrapa Ca ed. Brasília, DF: [s.n.].

SAMPAIO, J. B. R. Colheita e preparo do café brasileiro: aspectos qualitativos. **Documentos**, v. 50, n. EMBRAPA-CPAC, p. 21, 1993.

SANTANA, FELIPE BACHION DE SOUZA, A. M. DE et al. EXPERIMENTO DIDÁTICO DE QUIMIOMETRIA PARA CLASSIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS COMESTÍVEIS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO COMBINADO COM ANÁLISE DISCRIMINANTE POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS: UM TUTORIAL, PARTE V. **Química Nova**, v. 43, n. 3, p. 371–381, 2020.

SANTO, E. Utilização da Análise de Componentes Principais na compressão de imagens digitais. v. 10, n. 11, p. 135–139, 2012.

SAWAYA, A. C. H. F. et al. Monitoring of wine aging process by electrospray ionization mass spectrometry. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 730–734, 2011.

SCHIOZER, A. L. et al. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of extracts of the leaves of *Arrabidaea chica*. **Journal of**

**the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 3, p. 409–414, 2012.

SILVA, C. G. DA. **Qualidade da bebida do Café (Coffea arabica L.) Avaliada por Análise Sensorial e Espectrofotometria.** [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 1997.

SIVETZ, M.; FOOTE, H. E. **Bebidas. Tecnología, Química y Microbiología.** Acribia S. ed. Zaragoza: [s.n.].

SOUZA, F. D. F. et al. Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia. **Embrapa Rondônia. Documentos, 93**, p. 21, 2004.

TAVARES, K. M. et al. Espectroscopia no infravermelho médio e análise sensorial aplicada à detecção de adulteração de café torrado por adição de cascas de café. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1164–1168, 2012.

TOCI, A. T. et al. Coffee Adulteration: More than Two Decades of Research. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 83–92, 2016.

TRISTÃO, J. **Perspectivas do mercado interno brasileiro de café. In: Simpósio estadual do café**Simpósio estadual do café, 2. Vitória, ES: [s.n.].

YAMASHITA, M.; FENN, J. B. . Negative ion production with the electrospray ion source. **J. Phys. Chem.**, v. 88, p. 4671–4675, 1984.