



Davide Miguel da Silva Mendes

Licenciatura em Química Aplicada – perfil de Química
Orgânica

Análise e caracterização de compostos voláteis do café

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Prof. Doutor Marco Gomes da Silva,
Professor Auxiliar com Agregação, FCT-UNL
Co-orientadores: Eng. Pedro Lisboa, Responsável da
qualidade, Mocoffee Europe Ltd;

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Paula Sérgio Branco
Arguente(s): Prof. Doutora Maria João Pires de Bastos Cabrita
Vogal: Prof. Doutor Marco Diogo Richter Gomes da Silva

Análise e caracterização de compostos voláteis do café.

Copyright© Davide Miguel da Silva Mendes, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova De Lisboa tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Professor Marco Gomes da Silva pela oportunidade de poder desenvolver a tese de mestrado e ser para mim um verdadeiro mentor, tendo aprendido imenso a nível profissional e pessoal, por todos os ensinamentos, incentivos e oportunidades concedidas.

Um muito especial agradecimento ao Doutor Eduardo Mateus por todo o apoio e conhecimento que desde sempre disponibilizou e por ser a prova viva de que por mais conhecimento que adquiramos, nunca é demais.

Ao Eng. Pedro Lisboa um profundo agradecimento pela confiança depositada, apoio e disponibilidade. À Mocoffee Europe Ltd pelo apoio e financiamento prestado.

Ao grupo Resolution Lab, por todo o apoio, compreensão e contributo para o sucesso desta tese.

Ao grupo do Laboratório de Fitotécnia da Universidade de Évora pela ajuda e contributo.

À Catarina pela compreensão, apoio, por ter sempre acreditado em mim e nunca me ter deixado desistir de continuar.

Sumário

As cápsulas de café têm permitido facilitar e democratizar o consumo de café, simplificando o processo de extracção para consumo doméstico. A qualidade e consistência do processo de extracção do café encapsulado permite obter a quantidade exacta de café moído e a mistura de arábica/robusta desejada, simplificando o processo de extracção para consumo. A marca Mocoffee tem como base do seu negócio a venda de máquinas e cápsulas de café, contudo, uma vez que não produz directamente o café nem as cápsulas, tornou-se crucial o desenvolvimento de um método para a detecção de cápsulas fraudulentas.

Com este objectivo, foi efectuado o estudo da composição volátil das várias misturas de café encapsulado da marca Mocoffee. Embora já exista um vasto historial na literatura, a Mocoffee não detém esta informação referente às suas cápsulas. Com base no estudo da composição volátil, dos 222 compostos voláteis detectados (172 compostos identificados tentativamente), é proposta a possibilidade de discriminar diferentes misturas em cápsulas com base no rácio da mistura de arábica/robusta, origem geográfica e conjuntos de cápsulas.

O estudo foi efectuado através da análise do espaço de cabeça (*headspace*) por microextracção por fase sólida (HS-SPME) e posterior análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS), tendo sido posteriormente usada a análise por multivariável e análise de aglomerados hierárquicos para a determinação de compostos voláteis que caracterizassem cada um dos *blends*.

Neste trabalho observou-se que entre *blends*, existem diferenças com base na origem geográfica, mistura de arábica/robusta e degradação temporal. Estas diferenças foram detectadas com base em PCA e HCA, tendo-se verificado que com a normalização da área total é possível distinguir mistura de arábica/robusta (87,22% da variância total) e com normalização de logaritmo de base 10 ocorre uma separação pelo ano de lote, origem geográfica e mistura arábica/rousta (57,82% da variância total).

Summary

The coffee capsules have allowed to facilitate and democratize the consumption of coffee, simplifying the extraction process for home consumption. The quality and consistency of the encapsulated coffee extraction process allows obtaining the exact amount of ground coffee and the desired arabica/robusta blend, simplifying the extraction process for consumption. The basis of Mocoffee brand business is selling machines and coffee capsules, however, since it does not directly produce coffee or capsules, it has become crucial to develop a method for the detection of fraudulent capsules.

For this purpose, the volatile composition of the various mixtures of encapsulated coffee brand Mocoffee was studied. Although there is already a long history in literature, Mocoffee does not hold this information regarding its capsules. Based on the study of the volatile composition of the 222 volatile compounds detected (tentatively identified compounds), the possibility of discriminating different mixtures in capsules based on the Arabica / Robusta mixture ratio, geographic origin and capsule sets is proposed.

The study was performed using headspace analysis by solid phase microextraction (HS-SPME) and subsequent gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) analysis, the multivariable and hierarchical clusters analysis was then used for the determination of volatile compounds that characterized each of the blends.

In this work it was observed that between blends, there are differences based on the geographical origin, mixture of arabica / robusta and temporal degradation. These differences were detected based on PCA and HCA, and it was verified that with the normalization of the total area it is possible to distinguish arabica / stout mixture (87.22% of total variance) and with normalization of base 10 logarithm a separation occurs by lot year, geographical origin and arabica/robusta mixture (57.82% of total variance).

Abreviaturas

(Maioria das abreviaturas seguem a nomenclatura anglo-saxónica)

AA – Actividade antioxidante

CE – Café espresso

CGA – Chlorogenic acid

DVB/CAR/PDMS – Divinylbenzene/carboxen/poly(dimethylsiloxane)

EI – Electron ionization

eV – electron volt

GC – Gas chromatography

GC/MS – Gas chromatography coupled with mass spectrometry

HCA – Hierarchical clustering analysis

HS – Headspace

EIC – Extracted-ion chromatogram

LDL – Low density lipoprotein

LRI – Linear retention indices

LRI_{calc} – Experimental linear retention indices (calculated)

LRI_{lit} – Linear retention indices from reference literature or database (published)

min - Minuto

mL - Mililitro

MS – Mass spectrometry

NIST – National Institute of Standards and Technology

PCA – Principal component analysis

PP – Polipropileno

PTFE – Polytetrafluoroethylene (Teflon)

SPE – Solid phase extraction

SPME – Solid phase micro extraction

TIC – Total ion chromatogram

RF – Radiofrequência

RT – Retention time

Tabela de conteúdos

Agradecimentos	I
Sumário	III
Summary	V
Abreviaturas	VII
Tabela de conteúdos	IX
Lista de Figuras	XIII
Lista de tabelas	XVII
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Café	1
1.1.1 Origem do Café	1
1.1.2 O cultivo do café	1
1.1.3 A torra do café	3
1.1.4 Caracterização do café	4
1.1.5 Propriedades do café	5
1.1.6 As duas espécies dominantes	6
1.1.6.1 <i>Coffea arabica</i>	7
1.1.6.2 <i>Coffea canephora</i> – Robusta	8
1.1.7 Armazenamento do café	8
1.1.8 Sistema de Cápsulas	8
1.2 Mocoffee	10
1.2.1 História da Mocoffee	10
1.2.2 Mercado	10
1.2.3 Máquinas e cápsulas	10
1.3 Metodologia Analítica	11

1.3.1	Métodos de extracção	11
1.3.1.1	SPME	12
1.3.1.2	Visão geral	12
1.3.1.3	Descrição e uso	12
1.3.1.4	Breves Fundamentos teóricos.....	13
1.3.1.5	Optimização	15
1.3.2	Métodos Cromatográficos.....	15
1.3.2.1	Detecção	16
1.3.3	Espectrometria de massa	16
1.3.3.1	Ionização electrónica	16
1.4	Análise Química	17
1.5	Análise estatística e tratamento de dados	17
1.6	Objectivo	17
2	MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.1	Métodos de extracção	20
2.1.1	Microextracção por fase sólida	20
2.2	Instrumentação	20
2.2.1	Análise dos voláteis	20
2.2.1.1	GC/MS	20
2.3	Análise química	21
2.4	Tratamento de dados e análise estatística	22
3	DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	23
3.1	Voláteis.....	23
3.1.1	Identificação dos componentes das fracções voláteis de cada um dos <i>blends</i>	23
3.1.2	Caracterização olfativa dos compostos voláteis identificados	27

3.2	Tratamento de dados.....	28
3.2.1	Análise com base na percentagem de área total	28
3.2.1.1	Análise de aglomerados hierárquicos	28
3.2.1.2	Análise de componentes principais	30
3.2.2	Análise com normalização com logaritmo de base 10	33
3.2.2.1	Análise de aglomerados hierárquicos	33
3.2.2.2	Análise de componentes principais	35
4	CONCLUSÃO.....	41
5	BIBLIOGRAFIA.....	43
6	ANEXOS.....	47
6.1	Anexo A	47
6.2	Anexo B	73
6.3	Anexo C	78

Lista de Figuras

Figura 1.1 - Distribuição geográfica de <i>Coffea</i> arábica e <i>Coffea</i> robusta.....	2
Figura 1.2 - Desenho gerado a computador da tecnologia de extracção e da cápsula Mocoffee.	11
Figura 3.1 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais entre todas as amostras.	23
Figura 3.2 - Gráfico dos cinco compostos (nº de pico segundo a Tabela 6.1) mais intensos em todos os <i>blends</i>	24
Figura 3.3 - Relação entre os índices de retenção linear calculado com os índices de retenção lineares da literatura.....	25
Figura 3.4 - Representação 3D do TIC em função de m/z. Ordem do eixo do tempo de retenção invertida.	26
Figura 3.5 - Cromatograma EIC do composto 52 (ião 94), composto não identificado (ião 115) e composto 53 (ião 111).	26
Figura 3.6 - Comparação de cromatograma EIC no intervalo 27,70 a 29,00 min com identificação do número de compostos presentes e identificados.	27
Figura 3.7 - Dendograma da análise de aglomerados hierárquicos de todos os <i>blends</i> , baseado em todos os compostos voláteis.	29
Figura 3.8 - Análise de componentes principais para os dados da percentagem da área total para os diferentes <i>blends</i> estudados - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.....	31
Figura 3.9 - Análise 3D do componente principal 1, 2 e 3 para os dados da percentagem da área total para os diferentes <i>blends</i> estudados.	31
Figura 3.10 - Projecção dos <i>loadings</i> no plano de factores para as primeiras duas componentes - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.	32
Figura 3.11 - Dendograma da análise de aglomerados hierárquicos de todos os <i>blends</i> , baseado em todos os compostos voláteis normalizados com logaritmo de base 10.....	34
Figura 3.12 - Análise de componentes principais para os dados da normalização com logaritmo de base 10 para os diferentes <i>blends</i> estudados (1 - Vários, 2 – Cremoso, 3 – Lungo, 4 – <i>Ristretto</i> , 5 – Espresso, 6 – <i>Premium</i> e 7 – Origem geográfica única), agrupados com base na	

semelhança de lote (azul claro - ristretto, rosa - origem geográfica única e cinza - <i>premium</i>) - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.	36
Figura 3.13 - Análise de componentes principais para os dados da normalização com logaritmo de base 10 para os diferentes <i>blends</i> estudados, agrupados com base na semelhança de lote (azul claro - 0% arábica, verde - 45% arábica e vermelho - 100% arábica) – Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.	36
Figura 3.14 - Projecção dos <i>loadings</i> normalizados com logaritmo de base 10 no plano de factores para as primeiras duas componentes - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.....	37
Figura 3.15 - Conjugação do gráfico de componentes principais e projecção de <i>loadings</i> para os <i>ristretto</i> (excepto Ris-A-16).....	38
Figura 3.16 - Conjugação do gráfico de componentes principais e projecção de <i>loadings</i> para os <i>premium</i>	39
Figura 6.1 - Comparação do TIC de iões (EIC) 57+71+85 da amostra de hidrocarbonetos C ₈ a C ₂₀ identificados com TIC da amostra Cre-C-16.....	73
Figura 6.2 - Cromatograma reconstruído, intervalo 1 a 10 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	74
Figura 6.3 - Cromatograma reconstruído, intervalo 10 a 19 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	74
Figura 6.4 - Cromatograma reconstruído, intervalo 18 a 27 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	75
Figura 6.5 - Cromatograma reconstruído, intervalo 27 a 36 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	76
Figura 6.6 - Cromatograma reconstruído, intervalo 36 a 45 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	76
Figura 6.7 - Cromatograma reconstruído, intervalo 44 a 54 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	77

Figura 6.8 – Cromatograma reconstruído, intervalo 54 a 63 min, do <i>headspace</i> do <i>blend</i> Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.....	77
Figura 6.9 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos <i>blends</i> cremoso.....	78
Figura 6.10 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos <i>blends</i> longo.	78
Figura 6.11 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos <i>blends</i> <i>ristretto</i>	79
Figura 6.12 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos <i>blends</i> <i>espresso</i>	79
Figura 6.13 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos <i>blends</i> <i>premium</i>	80
Figura 6.14 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos <i>blends</i> origem geográfica única.	80

Lista de tabelas

Tabela 2.1 - Lista dos <i>blends</i> analisados.	19
Tabela 3.1 - Eigenvalues e variância total da análise de componentes principais a partir da porcentagem da área total dos compostos voláteis dos <i>blends</i>	30
Tabela 3.2 - Cinco <i>loadings</i> da porcentagem de área total com valores mais altos para a componente 1 e 2. (A identificação dos compostos encontra-se no texto).	32
Tabela 3.3 - Eigenvalues e variância total da análise de componentes principais a partir da normalização com logaritmo de base 10 dos compostos voláteis dos <i>blends</i>	35
Tabela 3.4 - Cinco <i>loadings</i> normalizados com logaritmo de base 10 com valores mais altos para a componente 1 e 2.	38
Tabela 3.5 - Cinco <i>loadings</i> normalizados com logaritmo de base 10 com valores mais altos para a componente 1 e 2 do <i>blends ristretto</i> (excepto Ris-A-16) com indicação de presença (verde) e ausência (vermelho).	39
Tabela 3.6 - Cinco <i>loadings</i> normalizados com logaritmo de base 10 com valores mais altos para a componente 1 e 2 dos <i>blends premium</i> com indicação de presença (verde) e ausência (vermelho).	40
Tabela 6.1 - Identificação dos picos após a análise por HS-SPME GC-MS, com índices calculados e da literatura, informação do grupo funcional (*índice de coluna FFAP).	47
Tabela 6.2 - Identificação do aroma principal e da presença (verde) ou ausência (vermelho) para cada composto volátil detectado por HS-SPME GC-MS.	59

1 Introdução

1.1 Café

1.1.1 Origem do Café

Desde o fim do século XV que o café tem vindo a tornar-se uma peça central na sociedade mundial, sendo hoje em dia a segunda bebida não alcoólica mais consumida em todo o mundo.[1]

A planta do café teve origem, muito provavelmente, em África e Madagáscar, e as primeiras culturas estão relatadas nos planaltos Etíopes. [2] As primeiras referências ao café na literatura surgem de cientistas árabes e datam dos séculos IX e X.[2] Desde então, o café tem sido cada vez mais valorizado e até ao século XVII o cultivo deste estava restrito à Arábia, principalmente aos planaltos do Iémen.[2] O monopólio do café foi mantido sob uso de proibições na exportação das plantas e dos grãos que apenas eram exportados depois de tornados inférteis.[2] Durante estes séculos de proibição, os peregrinos de Meca contribuíram para a divulgação do café, levando a que mais tarde o uso do café se espalhasse com o Império Otomano, mais propriamente pela região do mediterrâneo.[2] Contudo, só em 1615 é que o café começou a ser uma mercadoria (“*commodity*”) para comércio, aquando da chegada dos primeiros carregamentos a Veneza.[3]

Deu-se então uma generalização geográfica da produção do café ao longo dos séculos seguintes, estando nos dias de hoje distribuído pela região tropical, onde as condições para o seu cultivo são ideais.[3]

1.1.2 O cultivo do café

Dentro da família *Rubiaceae*, *Coffea* é o género mais popular, estando distribuído pela África, América do Sul e Central, Ásia e em algumas ilhas do Oceano Índico, tais como as Comores, Maurícias, Reunião e Madagáscar. O género foi subdividido em dois subgéneros: *Baracoffea*, restrito ao Madagáscar Oeste e a largamente distribuída *Coffea*. Consequentemente, o género *Coffea* inclui um total de 124 espécies, das quais 66 são nativas das ilhas do Oceano Índico.[4]

As plantas do café (*Coffea* sp.) são lenhosas, de folha perene (não cai todos os anos) e de plantação tropical, cultivadas em aproximadamente 80 países (Figura 1.1), tornando-as num dos produtos agrícolas mais comercializados em todo o mundo.[5][6] Esta característica econ mica deve-se ao grão de café, a semente do fruto do cafeeiro.[7] O grão, no seu estado verde, tem um aroma a terra e herbáceo, pelo que devem ser processados com tratamento de calor (processo de torra) antes de estarem aptos a consumo.[8] São também ricos em antioxidantes vegetais eficazes, tais como, ácido clorog nico, ácidos fenólicos, polifenóis e alcalóides, cujas quantidades podem variar consoante a espécie da planta de café e a sua origem.[9]

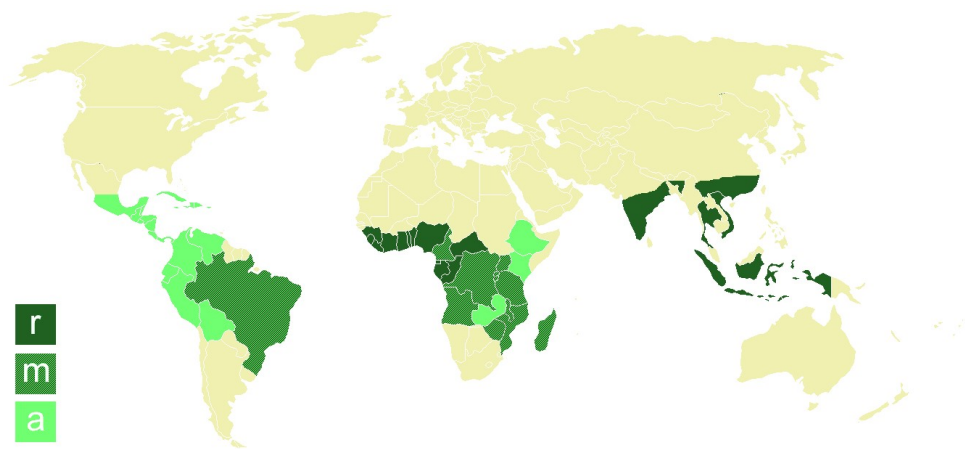


Figura 1.1 - Distribui o geográfica de *Coffea arábica* e *Coffea robusta*.

Os processos de planta o, colheita e processamento (despolpagem, secagem e armazenamento) dos grãos de café são cruciais para a sua qualidade na prepara o da bebida, uma vez que podem introduzir aromas e sabores negativos. Os principais tipos de defeitos na cadeia de processamento do café são os grãos pretos, parcialmente pretos, fermentados e imaturos. Os grãos pretos resultam dos frutos de café que caíram sobre o solo por ac o da chuva ou sobreamadurecimento. O grão fermentado prov m da ocorrência de fermenta o durante o processo de secagem ou da apanha de frutos sobreamadurecidos. Os grãos imaturos são os que prov m de frutos que foram colhidos ainda em estágio de amadurecimento.[10] A presença de grão defeituoso durante o processo de torra tem grande influência no perfil organoléptico da bebida uma vez que pode introduzir aromas e sabores indesejáveis (odores medicinais, mofados, sulfurosos e sabores met licos entre outros).

1.1.3 A torra do café

Os grãos são submetidos a uma série de transformações químicas induzidas pelo processo de torra, essencial para a formação do aroma e corpo (concentração de sólidos solúveis).[7] A torra é controlada pelo tempo, temperatura, mecanismo de transferência de calor e é, muitas vezes, avaliada qualitativamente apenas pela cor, que pode ser classificada na gíria como clara, média, média-escura e escura.[11] No entanto, a cor da torra é apenas um parâmetro de controlo. O nível de cor da torra não pode ser descorrelacionada de uma análise sensorial rigorosa e esta pode ser alcançada de múltiplas maneiras, tais como, duração, temperatura e mecanismos de transferência de calor. Esquemáticamente, é possível identificar quatro etapas principais no processo de torra: secagem, desenvolvimento, decomposição e torra completa.[8]

De um ponto de vista tecnológico, a torra consiste num fluxo de gases quentes produzidos electricamente, ou em grande escala mais recorrentemente pela queima de combustíveis fósseis que produzem ar quente que passa através de um leito de café em movimento. O calor é transferido do ar quente para o grão por mecanismo convectivos e, dependendo da técnica, também por radiação e/ou por condução devido ao contacto directo com as paredes do torrador.[12]

O processo de torra dos grãos consiste em aquecê-los a temperaturas que podem ir desde 180 até aos 250 °C durante um período variável de tempo, induzindo assim alterações relevantes: os grãos aumentam de volume (50 a 80%) e a sua estrutura e cor é modificada (o tom de verde altera para castanho), observa-se a perda de 13 a 20% do seu peso e cerca de 800 substâncias responsáveis pelo seu característico gosto e aroma a café são formadas.[8] A eficiência e qualidade do processo de torra do café depende de vários factores, tais como: a composição do gás, temperatura, pressão, tempo, velocidade relativa dos grãos e o fluxo de gás.[12]

Durante a torra, as mudanças provocadas por reacções químicas incluem a reacção de Maillard ou reacção não enzimática, a *browning reaction* e a degradação de Strecker de proteínas, açúcares, polissacarídeos, caramelização de hidratos de carbono, pirólise de compostos orgânicos e outros componentes.[9][13] Para além das mudanças na composição química, ocorrem também alterações na actividade biológica: enquanto compostos fenólicos naturais podem ser perdidos, outros compostos antioxidantes são formados.[14] Esta variação pode provocar uma perda de actividade antioxidante (AA) caso ocorra sobre-torra, sendo que a AA máxima foi observada com a torra média (240 °C por 3 min) enquanto que a menor AA

ocorre com a torra escura (240 °C por 3 min) para o caso dos grãos de café arábica colombiana.[9]

Durante a torra, existe a formação de compostos heterocíclicos voláteis que têm sido descritos como potenciais antioxidantes, como o hidroximetilfurfural, um intermediário na reacção de Maillard, que demonstrou ter uma AA semelhante ao 2,6-dibutil-4-metilfenol e ao α -tocofenol.[14] Neste processo ocorrem alterações dos macroconstituintes que, durante as reacções de Maillard, promovem a formação de melanoidinas que têm influências nas propriedades organoléticas do café proporcionando sabores agradáveis (caramelo, tostado, maltado, etc) e aromas positivos (malte fino, cheiro a pão, etc), mas também alguns sabores desagradáveis (amargo e queimado) e aromas desagradáveis (queimado, cebola, solvente, ranço e suor).[11] As melanoidinas são polímeros heterógenos de grande massa molecular que se formam quando o açúcar e aminoácidos se combinam e que podem absorver a luz em comprimentos de onda até 420 nm sendo, por isso, predominantemente responsáveis pela cor acastanhada característica dos alimentos.[15]

A torra influencia especialmente o aroma, sendo este um atributo importante para definir a aceitação do café por parte do consumidor, que também é influenciado pela variedade botânica, origem natural e historial de processamento.[9]

1.1.4 Caracterização do café

Uma variedade ou *blend* de café é, normalmente, avaliada com base em vários parâmetros (humidade, tamanho do grão, cor, conteúdo de cafeína, entre outros) através de testes organolépticos por um painel de provadores experientes.[16] Existem centenas de compostos voláteis com aroma que têm um limite de percepção sensorial baixo o suficiente para contribuir para o aroma do café torrado, mas que são responsáveis apenas por uma fracção reduzida do total do aroma.[17] Assim, um aroma volátil equilibrado e que confira sabor, é um pré-requisito essencial para um café de primeira classe.[17]

O perfil de *headspace* (compostos no espaço de cabeça por resultarem da sua libertação da matriz de café, vulgarmente designado como cheiro) nem sempre é suficiente para definir a qualidade do café. Em particular não é tão exacto como a prova, em virtude dos componentes do *headspace* caracterizarem principalmente o aroma.[16]

Na avaliação sensorial do café feita por provadores, o fim da boca e as passagens nasais gravam as primeiras impressões e auxiliam na classificação de “aroma”, enquanto que a parte

posterior da língua é sensível aos sabores amargos e frescos e a parte lateral da língua contribui para a detecção de degradação [18]

Embora a prova seja a forma mais usada para caracterização do café, muitas vezes é considerada objectivamente insuficiente. A solução será usar as análises químicas para auxiliar na avaliação da qualidade do café. Porém, tal não é feito, provavelmente, porque existem demasiados componentes químicos que devem ser considerados de forma a que o sabor e aroma possam ser avaliados tão completamente como é possível por degustação.[16] Isto pressupõe técnicas analíticas avançadas com elevada resolução e sensibilidade bem como operadores especializados.

1.1.5 Propriedades do café

O consumo de café é motivado principalmente pelo sabor e aroma agradáveis, as sensações positivas que produz e os seus efeitos fisiológicos. Relativamente a este último, o café destaca-se entre outras bebidas pela sua AA, pois encontrou-se maior quantidade de AA em cafés solúveis e espresso do que em vinho tinto e chá verde. [8][14]

Muitos dos efeitos positivos do café são atribuídos aos ácidos clorogénicos e aos seus derivados (CGAs), tais como, protecção contra a doença de Alzheimer, actividade anti carcinogénica, efeitos anti-inflamatórios, inibição da integrase do HIV-1, actividade antiespasmódica, inibição da acção de compostos mutagénicos e carcinogénicos, tais como *n*-Nitroso-*n*-metilurea e uma melhor utilização de glicose hepática, entre outros.[11][19]

Os CGAs são um grupo de compostos que resultam da esterificação de um ou mais resíduos de ácido fenólico (principalmente ácido cafeico, ferúlico ou *p*-cumárico) com o ácido quínico e que são comumente encontrados e diferentemente distribuídos em plantas superiores.[20] O conteúdo de CGAs também varia fortemente com o processo de torra, sendo que os mais habituais são o ácido cafeoilquínico, ácido dicafeoilquínico, ácido feruloilquínico, ácido diferuloilquínico, ácido *p*-cumaroilquínico e os diésteres de ácidos cafeico e ferúlico com ácido quínico.[11][19]

As lactonas de ácido clorogénico resultantes da ciclização dos CGAs, que se formam durante o processo de torrefacção pela perda de uma molécula de água a partir de uma porção de ácido quínico e formação de uma ligação éster intramolecular, têm recebido atenção devido aos seus potenciais efeitos sobre a função cerebral independente dos efeitos farmacológicos da

caféina como, por exemplo, inibir o transportador de adenosina humana e poder, potencialmente, neutralizar o efeito estimulante de caféina no cérebro.[19]

O consumo de café regular pode reduzir a oxidação da lipoproteína de baixa densidade humana (LDL), diminuindo assim o risco de aterosclerose.[9]

Contudo, o café também pode ter efeitos negativos. Quando o café é preparado por uma ebulição prolongada e a bebida não é filtrada através de papel ou de uma cama de café, os terpenóides, cafestol, caveol e o 16-*O*-metil-cafestol, que ocorrem como ésteres de ácidos gordos, passam para a mistura de café final.[21] Estes compostos são responsáveis pela elevação reversível do colesterol LDL plasmático observado em algumas populações, nomeadamente na Escandinávia e Itália.[21]

1.1.6 As duas espécies dominantes

A indústria do café está avaliada mundialmente em mais de 90 mil milhões de euros por ano, tornando o café numa das mercadorias mais valiosas do mundo, sendo apenas ultrapassado pelo petróleo.[22][23]

A produção do café envolve cerca de 500 milhões de pessoas, desde o cultivo até ao consumo final.[24] Embora na natureza existam cerca de 70 espécies pertencentes ao género *Coffea*, três delas são as maioritariamente cultivadas e vendidas: *Coffea arabica* Linnaeus (arábica), *Coffea canephora* Pierre (robusta) e *Coffea liberica* Hiern.[8] Destas, destacam-se a *Coffea arabica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta) que diferem consideravelmente em preço, qualidade e aceitação do consumidor, sendo cultivadas em 80 países de quatro continentes. [23][25][26]

Devido ao crescente aumento da diferença de preço entre arábica e robusta, há cada vez mais tentativas de fraude em substituir o café arábica de alta qualidade por um robusta de menor qualidade e preço.[27] Em consequência disso, há a necessidade de ter um método analítico sensível, rápido, simples e confiável para determinar o rácio entre as duas espécies nas misturas (*blends*) de café. [26][27] As duas espécies são relativamente fáceis de diferenciar com base no seu tamanho, forma e cor quando ainda em grãos verdes e quando torrados também é possível distinguir com base no tamanho, mas após a moagem torna-se difícil essa distinção. [26][27][28] A estimativa da fracção arábica pode ser realizada apenas por meios sensoriais ou químicos e os componentes voláteis, apesar de constituírem apenas 0,1% dos componentes totais, revelaram caracterizar diferenças significativas no aroma final do café.[29] Por outro

lado, a composição noutros compostos químicos de arábica e robusta é distinta, como por exemplo no teor em diterpenos, tocoferol, ácido clorogénico, cafeína, aminoácidos livres, ácidos gordos e polissacáridos.[28] Na análise sensorial por um provador experiente a sua precisão de estimação para o grau de mistura para um lote de arábica/robusta é de 20%.[28] Assim, de forma a detectar o rácio de composição de misturas de arábica/robusta, foram desenvolvidos métodos para distinguir uma espécie da outra, tais como, técnicas cromatográficas, espectroscopia próxima do infravermelho (NIRS) e o uso de espectroscopia de Raman para identificação do caveol, que é praticamente exclusivo do arábica.[26][28]

1.1.6.1 *Coffea arabica*

O café arábica é responsável por 60% de todo o café produzido mundialmente e tem uma qualidade organoléptica superior à das outras espécies de café comercialmente usadas, como da robusta.[30] Esta espécie foi originalmente introduzida na América Latina e nas Caraíbas, proveniente de alguns exemplares da ilha de Java.[30]

Esta espécie tem um perfil de sabor doce e floral/frutado pronunciado, é também normalmente cultivada em encostas de montanhas, o que aumenta o seu preço.[27] O café arábica é conhecido pela sua qualidade superior, com aroma intenso, baixo conteúdo de cafeína (1,16 a 4% no total de matéria seca), menor sabor amargo e, como tal, tem um preço acrescido.[31][32] A variedade arábica caracteriza-se também pela quantidade de caveol (1,2 a 2,1 mg/kg), pela ausência de 16-*O*-metilcafestol que pode servir para detectar a mistura de robusta em quantidades de $\geq 2\%$, contém também menos pirroles alquilados e mais furfurilpirroles do que o robusta. [26][32]

Os cafés arábica lavados são caracterizados por alguma acidez e aroma intenso, enquanto que os cafés arábica processados a seco são menos ácidos e têm um aroma menos marcado, mas um corpo mais rico.[25]

Desta forma, os *blends*, que podem ser feitos antes ou após a torra, têm o intuito de obter preparações de café (*coffee brews*) de uma maior qualidade que as variedades individuais.[25]

1.1.6.2 *Coffea canephora* – Robusta

Esta espécie é mais resistente a doenças, cresce em terras planas possibilitando uma produção mecanizada mais fácil e resulta num sabor mais forte e achocolatado.[26] Devido ao seu baixo custo, os cafés robusta são usados como enchimento em misturas torradas e moídas, adicionando notas de terra e fenólicas a alguns cafés com torras escuras, dando assim corpo e sabor.[29]

Nesta variedade, o cafeol é residual, cerca de 0,1 mg/kg, apresenta quantidade de 16-*O*-Metilcafestol entre 0,6-1,2 mg/kg, contém maior quantidade de Δ^5 -avenasterol relativamente ao arábica.[32]

Os cafés robusta são caracterizados pela sua amargura e um típico sabor a terra e a madeira.[25]

1.1.7 Armazenamento do café

A variedade e origem dos grãos de café, as condições de armazenamento bem como o processo de torra, são controlados pelos produtores e fabricantes, mas, uma vez distribuídos para milhares de lojas e milhões de consumidores, a oportunidade de realizar uma verificação de qualidade deixa de ser possível.[17]

Os principais factores na prevenção do ranço no café são a temperatura de armazenamento, penetração de oxigénio e a perda de voláteis através da difusão, sendo que a perda física de voláteis pode exceder a contribuição da oxidação para a alteração da qualidade.[17]

Testes com diferentes tipos de materiais de embalagem e atmosferas modificadas mostraram claramente a sua importância para a selagem hermética da embalagem.[17]

1.1.8 Sistema de Cápsulas

A preparação do café é um processo de extracção sólido-líquido em três passos: absorção de águas das moagens de café, transferência de massa de solúveis das moagens de café para a água quente e a separação da mistura resultante da moagem de café.[1] São usados uma variedade de métodos de preparação de café, cada um com as suas características próprias de

extracção e que proporcionam propriedades de sabores únicos.[1] As propriedades sensoriais do café de filtro, preparadas gravimetricamente por passagem de água quente através de moagens de café soltas num filtro, são fortemente afectadas pelo tamanho de partícula, relação sólido/água, tempo de contacto e temperatura da água.[1] Devido à sua solubilidade diferente em água, os compostos químicos no café torrado são extraídos para a mistura a velocidades diferentes e, como resultado, o rendimento individual de cada componente na extracção, irá determinar as propriedades sensoriais da mistura.[1] Devido às diferentes formas de preparação de café, é possível agrupá-las de acordo com o seu conteúdo de heterofases, desde soluções puras e suaves (café de filtro), emulsões (café fervido nórdico) e suspensões espessas (café turco).[33]

À medida que a água entra em contacto com o café, os primeiros sabores que são extraídos são os sabores doces, ácidos e frutados e, em seguida, os sabores terrosos e caramelizados, na maioria hidrocarbonetos e óleos mais complexos e, por último, os compostos amargos e adstringentes.[1] Assim, de forma a criar um equilíbrio no perfil de sabor da bebida de café, é geralmente aceite um rendimento total de extracção ideal entre os 18 a 22%.[1]

O tempo de preparação do café em cápsula é consideravelmente mais curto que a preparação do café por gotejamento (30 a 60 segundos *versus* 8 a 12 minutos, respectivamente) e, conseqüentemente, o tempo de contacto com a água é mais curto.[1] Além disso, uma vez que o tempo de preparação, temperatura da água, volume da mistura e parâmetros da velocidade de fluxo são controlados por um microprocessador e tanto a mistura como o tamanho da moagem já foram definidos para a cápsula, a intervenção do utilizador é praticamente eliminada durante o processo de preparação do café a extrair.[1]

O sistema de cápsulas permite padronizar o café espresso (CE) que, por definição, é “uma bebida obtida por percolação de água quente sob pressão através de um bolo compacto de café moído torrado, onde a energia da pressão da água é gasta dentro do bolo”.[34] A quantidade de líquido na extracção de café varia culturalmente, podendo ir dos 15 mL de espresso concentrado na Sicília até aos mais de 250 mL nos Estados Unidos da América, e a quantidade de café usado pode ser desde 5 g até mais de 15 g, contudo é comum definir-se que um CE consiste em cerca de 35 mL de bebida escura, geralmente servido num copo pequeno com uma camada de espuma *marrom* designado por crema, que cobre o líquido. [33][34]

A temperatura à qual se procede à extracção é crítica para a preparação de um bom café, sendo a 92°C quando se consegue obter o melhor perfil odorante, notas de sabor e maior aceitabilidade. Caso a temperatura seja inferior obtém-se menos odor, sabor e intensidade corporal e caso seja superior obtém-se um sabor queimado e um maior teor de odorantes negativos.[34]

Devido à facilidade de controlar todos os parâmetros referidos, comodidade de compra, armazenamento e utilização, em conjunto com as vantagens de preservação do café que a cápsula permite, o café em cápsula é cada vez mais o método de preparação de café de eleição.[34]

1.2 Mocoffee

1.2.1 História da Mocoffee

Em 1976 ocorre a invenção da cápsula da Nespresso e, 10 anos mais tarde, é fundada a Nespresso S.A., sendo Eric Favre o primeiro director executivo que, após três anos, deixa a Nestlé. Em 1991, Eric Favre cria a empresa Monodor e 19 anos mais tarde funda a Mocoffee.

1.2.2 Mercado

A Mocoffee divide-se em duas formas de abordagens no mercado:

- I. Através da marca “Made with MO” que permite a licencição da tecnologia da marca a terceiros de forma a permitir o uso do café de alta qualidade;
- II. Usando a própria marca Mocoffee onde comercializa a própria marca, permitindo assim obter uma experiência de café de alta qualidade.

1.2.3 Máquinas e cápsulas

A tecnologia patenteada das cápsulas Mocoffee (Figura 1.2) permitiu obter uma forma otimizada, sem a necessidade de adicionar filtros, uso apenas de polipropileno (PP) que permite a inceneração completa e uma carga maior de café (6,5 g) comparativamente às das marcas concorrentes. Todos estes atributos permitem que a cápsula da Mocoffee tenha custos de produção reduzidos, um rácio maior de café por quantidade de material de cápsula e, devido ao uso dos materiais em PP, é totalmente reciclável.

O funcionamento das cápsulas de café consiste numa extracção a 9-12 bar de pressão, sendo a cápsula, hermeticamente selada, furada por 18 pontas e um injector dinâmico permite equilibrar a distribuição da água dentro da cápsula.



Figura 1.2 - Desenho gerado a computador da tecnologia de extracção e da cápsula MocoCoffee.

1.3 Metodologia Analítica

Na análise analítica de amostras um dos passos mais determinantes para a qualidade dos resultados finais é a preparação de amostra, sendo esta muitas vezes menosprezada quando comparada com a cromatografia.[35] Este problema agrava-se quando se trabalha com amostras biológicas, neste caso o café, onde a diversidade química é grande e em diferentes concentrações.[35]

O uso da cromatografia gasosa (GC) permite obter uma representação verosímil do perfil volátil de uma matriz, se bem que se tenha de atender ao facto que nem todos os compostos analisados são estáveis no processo de GC e que os procedimentos de preparação de amostra exercem efeitos profundos, tanto quantitativa como qualitativamente, na amostra injectada.[36]

1.3.1 Métodos de extracção

Para que uma amostra possa ser injectada em GC é necessária a preparação de amostra adequada, concentração ou/e isolamento da matriz não volátil, e no caso de aromas ou fragrâncias estes procedimentos são críticos.[37] Existem várias técnicas de preparação de amostra como o soxhlet, extracção líquido-líquido, extracção por fase sólida (SPE), micro-extracção por fase sólida (SPME), destilação a vapor, extracção-destilação simultânea, entre outras, sendo que no caso de voláteis a SPME quando usada em *headspace* (HS) permite o isolamento e concentração por adsorção/absorção dos analitos da amostra num único passo.[37]

1.3.1.1 SPME

1.3.1.2 Visão geral

A técnica de SPE envolve a absorção do analito a partir da amostra para o suporte sólido modificado e depois a desorção do analito por duas vias: termicamente ou por uso de um solvente, tornando esta técnica numa alternativa eficaz à extracção líquido-líquido.[38] Embora a SPE reduza o consumo de solventes com um elevado grau de pureza, reduzindo assim os custos e a necessidade da eliminação dos mesmos, e o tempo necessário para isolar o analito, existem problemas associados como a variabilidade dos produtos de diferentes fabricantes, a adsorção do analito e o aumento de interferentes na análise por parte do plástico com que os cartuxos de SPE são fabricados.[38]

A SPME surge como um melhoramento da SPE, mantendo as vantagens enquanto elimina os problemas associados como: os solventes são eliminados por completo e o tempo de extracção é reduzido a alguns minutos.[38]

1.3.1.3 Descrição e uso

O instrumento de SPME consiste numa fibra de sílica fundida revestida com um polímero absorvente/adsorvente, como poliamida, carbowax, polidimetilsiloxano, entre outros, podendo haver uma mistura de dois ou três tipos para maximizar o poder de adsorção/absorção.[35][38] Esta fibra está conectada a um êmbolo de aço inoxidável e montada num suporte tipo seringa, que permite mudar a fibra consoante a necessidade e controlar a exposição da fibra durante a extracção e desorção.[35][39]

A técnica de SPME foi desenvolvida com o intuito de permitir uma preparação de amostra rápida, tanto em laboratório como directamente no local a investigar, sendo que a sua forma de uso consiste em:

- I. A fibra revestida com a fase de extracção é exposta à amostra por um período de tempo definido;
- II. Ocorre um equilíbrio de partição entre a matriz da amostra e a fase de extracção, ou pode ser usado um pré-equilíbrio e, seguidamente, efectuar-se a extracção em que a quantidade de analito extraída está relacionada com o tempo se a convecção/agitação for constante;

III. Após a extracção, a fibra é inserida no injector e ocorre a desorção com base na temperatura;

Embora existam muitas formas distintas de aplicar o conceito de SPME, a forma mais usada é a técnica em fibra.[40] Experimentalmente, a desorção térmica da técnica de SPME é mais simples quando comparada à SPE, pois a SPME usa uma fibra com uma geometria de superfície cilíndrica muito bem definida e menos complexa que as embalagens de SPE.[38] A espessura de filme das fibras (100 a 300 µm) torna-as convenientes para as injeções *on-column* e o método não requer uma remoção completa do analito da matriz líquida, isto permite que possa ser aplicada a uma gama mais vasta de aplicações do que a SPE.[38]

1.3.1.4 Breves Fundamentos teóricos

Existem três tipos básicos de extracção por SPME: a extracção directa, extracção de HS e uma extracção envolvendo uma membrana.[40] Na extracção directa a fibra é imersa directamente na amostra e os analitos são transportados directamente da matriz da amostra para a fase extractora.[40]

A SPME quando usada em HS funciona com base em dois processos de equilíbrio:

- i. o equilíbrio entre os analitos voláteis e a matriz onde estes se encontram, sendo este dependente da volatilidade e propriedades da matriz;
- ii. o equilíbrio entre os analitos na fase gasosa e o revestimento da fibra, que depende da afinidade dos analitos com o revestimento da fibra;

Desta forma, a SPME é um método de extracção não exaustivo e que atinge o poder máximo de extracção quando a concentração dos analitos atinge o equilíbrio de distribuição entre a matriz e a fibra.[35]

A quantidade de analitos extraídos, em equilíbrio, é descrita na equação 1-1:

$$n = \frac{(K_{fs} V_f V_s C_0)}{(K_{fs} V_f + K_{hs} V_s + V_s)} \quad 1-1$$

Onde:

n = quantidade de analitos extraídos pela fibra

K_{fs} = revestimento da fibra/constante de distribuição do analito [K_{fs} = (quantidade de analito na fibra) / (quantidade de analito na matriz)]

V_f = volume do revestimento da fibra

V_s = volume da amostra

C_0 = concentração inicial do analito

V_h = volume do HS

K_{hs} = constante de distribuição do analito entre a matriz e o HS.

Pela equação deduz-se que a quantidade extraída de analitos é proporcional à sua concentração inicial, à constante de distribuição do revestimento da fibra com o analito (sendo por isso fulcral uma boa escolha de fibra relativamente à amostra em estudo), ao volume de amostra, o volume do revestimento da fibra e o volume do HS.[35]

De forma a calcular-se o tempo necessário para se atingir o equilíbrio, sendo este dependente da difusão de massa do sistema, é necessário usar-se a equação 1-2:

$$T_e \approx T_{95\%} = \frac{(L_f)^2}{2D_f} \quad 1-2$$

Onde:

T_e = tempo necessário para atingir o equilíbrio

$T_{95\%}$ = tempo de equilíbrio alcançado quando 95% da quantidade do analito é extraída da amostra

L_f = espessura do revestimento da fibra

D_f = coeficiente de difusão do analito na camada de revestimento

Como a técnica de SPME tem um erro experimental intrínseco associado de 5%, uma alteração da massa extraída não pode ser determinada se for menor do que esse mesmo erro, assim, assume-se que o tempo de equilíbrio prático é alcançado quando 95% da quantidade de equilíbrio do analito é extraído da amostra.[35]

Nas amostras reais, a adsorção/absorção dos analitos às fibras variam, isto deve-se a factores como a agitação e temperatura e força iónica do meio, implicando assim uma diferença no acesso dos analitos à fibra.[35]

1.3.1.5 Optimização

A extracção dos analitos depende primeiramente da fibra escolhida, pois cada fibra terá uma polaridade, espessura e comprimento distintos, mas os parâmetros operacionais como a agitação da amostra, pH, *salting out*, a própria amostra, volume do HS, tempo de extracção entre outros, irão contribuir para a eficiência, precisão e eficácia do processo.[35]

A escolha da temperatura acertada para a amostra é fundamental, especialmente quando o objectivo é a extracção dos voláteis, pois esta influencia a cinética da extracção e a sensibilidade.[34] Desta forma, um aumento na temperatura aumenta a eficiência da extracção enquanto que, ao mesmo tempo, diminui a constante de distribuição, o que torna fundamental um estudo da temperatura óptima de extracção.[35]

A agitação durante a extracção promove o contacto e a transferência dos analitos da amostra para o revestimento da fibra, o *salting out* consiste em adicionar sal para saturar a amostra e desta forma promover a libertação dos analitos para o HS e o controlo do pH permite melhorar a selectividade da extracção, onde amostras acidificadas promovem a extracção de analitos ácidos e as amostras alcalinas a extracção de analitos alcalinos.[35]

O volume da amostra irá influenciar as constantes de distribuição estimadas, pois caso o K_{fs} dos analitos seja elevado, a sensibilidade irá ser afectada pelo volume ($n \approx V_s C_0$), e também se o volume da amostra aumentar a concentração inicial irá diminuir.[35]

A desorção dos analitos é efectuada directamente no injector do GC a uma temperatura elevada, pois a desorção dos analitos é dependente do seu ponto de ebulição, mas também há que ter em conta o seu tempo de desorção, da espessura da fibra, do volume do *liner*, a profundidade de inserção da fibra no injector e da geometria do injector.[35]

1.3.2 Métodos Cromatográficos

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) é uma técnica de eleição quando aplicada à análise dos analitos voláteis e semi-voláteis em produtos alimentares entre outras matrizes, sendo comumente usada para análise de grãos verdes e torrados de café. [6][41]

Um sistema de GC consiste num gás de arraste, um injector para se introduzir as amostras, um forno com temperatura controlada, uma coluna analítica e um detector, estando o sistema conectado a um computador com software de aquisição e tratamento de dados.[35]

1.3.2.1 Detecção

Num sistema de GC/MS os analitos são separados na coluna e posteriormente fragmentados no espectrómetro de massa (MS), isto produz um conjunto de informações que são reconstruídos por software em forma de um cromatograma reconstruído de iões (TIC). A informação obtida por estes sistemas contém a informação estrutural em forma de um rácio de massa sobre carga (m/z), podendo esta informação ser comparada com bibliotecas de espectros, tais como a NIST ou a Massbank.[35]

1.3.3 Espectrometria de massa

Num sistema de GC/MS, a amostra injectada é separada na coluna, onde cada um dos analitos é separado e elui em diferentes tempos de retenção (RT) para a câmara de vácuo, através da linha de transferência. De seguida, na fonte de ionização, os analitos são bombardeados com electrões que promovem a sua fragmentação, originando iões, e são direccionados para o quadrupolo. No quadrupolo, os iões são seleccionados com base na m/z , durante ciclos de radiofrequência (RF) de curtos intervalos de tempo de milissegundos e num intervalo de m/z previamente determinado.

Por fim, o detector regista cada um dos iões que se ajustaram à RF e assim conseguem alcançar o detector. Isto permite obter informação da abundância relativa de cada m/z que é normalmente disposta num histograma das intensidades dos iões vs a sua m/z , sendo designado de espectro de massa.[35]

1.3.3.1 Ionização electrónica

O método mais comum de ionização associado a GC/MS é a ionização electrónica (EI), que consiste em bombardear as moléculas com electrões de alta energia (-70 eV) emitidos a partir de um filamento. Esta técnica origina um conjunto de iões fragmentos com carga positiva que terão, normalmente, um padrão de fragmentação característico de cada molécula e que depende tanto da energia aplicada como da estrutura química do analito. Com base no padrão de fragmento característico de cada molécula é possível usar-se bibliotecas de espectro para a sua caracterização, identificação, semiquantificação e quantificação (se utilizados padrões marcados isotopicamente dos compostos alvo).[35]

1.4 Análise Química

1.5 Análise estatística e tratamento de dados

Devido ao avanço no poder de computação nos últimos anos, o uso de métodos estatísticos multivariáveis tem vindo a ser aplicado ao domínio da espectroscopia.[26]

Em virtude do grande volume de dados (compostos, origem geográfica, variedade, ano de colheita) obtidos com as amostras de café, o uso de análise de componentes principais (PCA) torna-se crucial de modo a identificar padrões, semelhanças, diferenças, compressão dos dados e redução do número de dimensões (ou variáveis necessárias para descrever um sistema) sem que ocorra perda de informação significativa.[42][43] É fundamental recorrer à normalização dos dados obtidos antes da análise estatística devido à grande amplitude de escala dos valores observados, em especial nos compostos voláteis dos cafés, para que a influência de cada composto reflecta a verdadeira medida da sua contribuição.[43]

1.6 Objectivo

Neste trabalho pretende-se avaliar diferentes *blends* de café utilizando a metodologia analítica HS-SPME GC/MS. Este trabalho é um estudo prévio para avaliar a exequibilidade futura, desta metodologia associada a metodologias de análise por multivarável no sentido de controlar a origem e qualidade de diferentes misturas de café a encapsular. Nesse momento, as misturas de café a estudar terão de ser de origem controlada, o que não aconteceu neste trabalho pois foi meramente exploratório nesse sentido.

2 Materiais e métodos

Este estudo foi conduzido de forma a analisar um conjunto de cápsulas de alguns dos *blends* comercializados (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Lista dos *blends* analisados.

Categoria	Código	Nome	% Arábica	Lote
Vários	Dec-A-16	Deca	70	L0632/16
	Dec-B-16	Oswald Decaffeinato	70	L4873/16
	Tra-A-16	Tradizone	100	L2399/16
	Fir-A-16	Finesso	80	L2069/16
Cremoso	Cre-A-16	Cremoso	95	L2543/16
	Cre-B-16	Oswald Crema	95	L4507/16
	Cre-C-16	Oswald Crema	95	L4518/16
	Ric1-A-16	Richard Nº1	95	L5620/16
Lungo	Lun-A-16	Oswald Lungo	100	L2601/16
	Lun-B-16	Lungo	100	L2948/16
	Lun-C-16	Lungo	100	L3111/16
	Lun-D-16	Lungo	100	L5211/16
	Ric8-A-16	Richard Nº8	100	L5454/16
Ristretto	Ris-A-16	Ristretto	45	L2592/16
	Ris-B-16	Ristretto	45	L4905/16
	Ris-C-16	Ristretto	45	L4905/16
	Ris-D-15	Ristretto	45	L0419/15
	Ris-E-15	Ristretto	45	L0398/15
Espresso	Ric3-A-16	Richard Nº3	80	L5489/16
	Ric3-B-16	Richard Nº3	80	L5464/16
	Esp-A-16	Espresso	80	L1171/16
Premium	Sid-B-16	F. Sidamo	100	L0869/16
	Bel-B-16	F. Bella Vista	100	L0868/16
	Bel-A-15	F. Bella Vista	100	L4086/15
	Sid-A-15	F. Sidamo	100	L4065/15
Origem Geográfica Única	Cos-A	Costa Rica	100	
	Cos-B	Costa Rica	100	
	Cub-A	Cuba	100	
	Col-A	Colombia	100	
	Bra-A	Brazil	100	
	Méx-A	México	100	
	Ind-A	India	0	

2.1 Métodos de extracção

2.1.1 Microextracção por fase sólida

Após o agrupamento das cápsulas conforme descrito no ponto 2, cada uma das cápsulas foi aberta e pesou-se, em duplicado, aproximadamente 1 grama de café para um vial de 20 mL (Specanalítica) e selado com tampa metálica e septo PTFE/silicone (Specanalítica).

O HS dentro do frasco foi analisado por SPME usando uma fibra de divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), 1 cm, 50/30 μm de espessura de filme (d_f) produzida pela Supelco, Bellefonte, PA, USA. A extracção por HS foi efectuada a 40°C durante 12 min e os compostos foram desorvidos a 260°C no injector do cromatógrafo durante 3 min. Antes das análises, a fibra foi condicionada segundo o procedimento padrão do fabricante.

2.2 Instrumentação

2.2.1 Análise dos voláteis

2.2.1.1 GC/MS

A análise dos voláteis de todos os *blends* foi efectuada usando um sistema de GC/MS constituído por um Bruker GC 456 acoplado a um detector de massas Scion TQ da Bruker. Foi usado como injector automático um CTC Analysis autosampler CombiPAL.

A separação e análise dos voláteis dos *blends* foi efectuada com uma coluna capilar ZB-WAX PLUS (60 m x 0,32 mm i.d., 1 μm d_f).

As condições de operação do GC/MS foram as seguintes:

- Temperatura inicial de 40 °C durante 5 min, seguido de uma rampa de 4 °C/min até aos 240 °C onde se manteve por 10 min;
- Fluxo de 1,7 mL/min;
- Modo de injeção de splitless durante 2 min;
- Temperatura do injector a 260 °C;
- Ionização de impacto electrónico (EI) a 70 eV;
- Modo de full scan, massas: 40 a 450 u;
- Temperatura da fonte a 220 °C;
- Temperatura da interface a 240 °C.

2.3 Análise química

Os compostos individuais foram identificados por comparação do espectro de massa obtido com o correspondente da base de dados da NIST MS search program version 2.0g. Todos os picos foram comparados com os espectros da biblioteca e foi efectuada uma identificação tentativa para todos os que se obteve uma correspondência espectral acima de 80%. A identificação tentativa dos compostos foi efectuada por comparação dos espectros experimentais, após uma avaliação crítica, com bases de dados de espectros e respectivos índices de retenção.

Sempre que necessário, as atribuições de identificações tentativas foram fundamentadas com os índices de retenção lineares (LRI) na literatura. Estes LRIs foram calculados para cada composto com base numa mistura de hidrocarbonetos C₈ a C₂₀ (Sigma Aldrich, Suíça) e de acordo com a equação 2-1 de Van den Doon e Kratz [44]:

$$I = 100 n + 100 \left(\frac{Tr(i) - Tr(n)}{Tr(N) - Tr(n)} \right)^{2-1}$$

onde:

I = índice de retenção calculado;

n = número de carbonos do n-alcano menor;

Tr(i) = tempo de retenção do composto identificado;

Tr(n) = tempo de retenção do n-alcano menor;

Tr(N) = tempo de retenção do n-alcano maior.

A comparação dos resultados de identificação e detecção, entre *blends*, foi efectuada sobrepondo os respectivos cromatogramas ou parcelas de forma a detectar/identificar componentes que são comuns ou que são únicos para as amostras. Como critério, definiu-se que compostos com o mesmo tempo de retenção ou na proximidade do tempo de retenção (+/- 3 s) e com um espectro de massa idêntico representam o mesmo composto.

2.4 Tratamento de dados e análise estatística

O tratamento de dados foi efectuado com o software MS Datareview (Bruker), para a determinação manual de cada um dos picos.

A análise estatística de dados multivariados foi efectuada com o programa Unscrambler X 10.4 (CAMO). A percentagem de área relativa de cada um dos compostos presentes nas fracções voláteis de cada um dos *blends* foi utilizado na análise de dados. Os dados obtidos foram submetidos em forma de matriz, estando cada um dos *blends* (objectos) dispostos por linhas e cada um dos compostos (variáveis) dispostos por colunas. Antes da análise multivariada de dados, efectuou-se a sua normalização por percentagem de área e logaritmica de base 10.

3 Discussão de Resultados

3.1 Voláteis

A composição das fracções voláteis de cada um dos *blends* de cafés foi analisada. A identificação dos componentes voláteis foi efectuada através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS).

3.1.1 Identificação dos componentes das fracções voláteis de cada um dos *blends*.

A quantidade relativa de cada composto volátil de cada uma das *blends* estudadas foi determinada por GC/MS. O cálculo de áreas foi efectuada manualmente de forma a não excluir picos devido a uma baixa intensidade, forma não gaussiana ou a coeluição.

Os resultados mostram (secção de tratamento estatístico 3.2) que a composição de *blends* estudada estava dominada por derivados de furanos, pirazinas, piridinas e ésteres que contabilizaram em média cerca de 45,4%, 25,6%, 8,1% e 7,3%, respectivamente. Os restantes 13,6% são constituídos por ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, hidrocarbonetos aromáticos, cetonas, hidrocarbonetos, piperidinas, oxazoles, pirroles, pirrolidinas, sulfurados, terpenos, tiazoles, tiofenos (Figura 3.1).

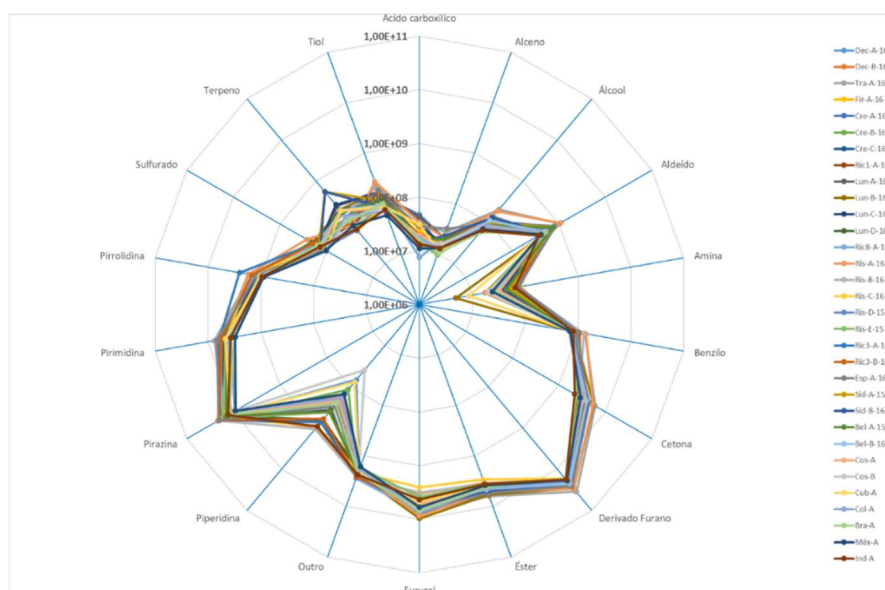


Figura 3.1 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais entre todas as amostras.

A relação das quantidades das famílias de grupos funcionais entre amostras de características semelhantes foi também verificada, tendo-se observado pequenas variações entre si (Anexo C).

Os derivados de furanos com maior área, tais como 2-furanometanol (com o nº de pico 164, Tabela 6.1), acetato de furfural (139), 5-metil-furfural (151) e furfural (132), e pirazinas, tais como metilpirazina (89), 2,6-dimetilpirazina (101), etilpirazina (102) e 2-etil-6-metilpirazina (115), foram encontrados em todos os *blends* (Tabela 6.1, Anexo A).

O composto mais intenso em todos os *blends* foi o 2-furanometanol (164), seguido do acetato de furfural (139), metilpirazina (89) e a piridina (68), tendo as intensidades relativas entre si variado ao longo das amostras. Por fim, o 5-metilfurfural (151) foi o quinto composto mais intenso em todos os *blends* excepto Cos-B, Col-A, Bra-A e Méx-A (Figura 3.2).

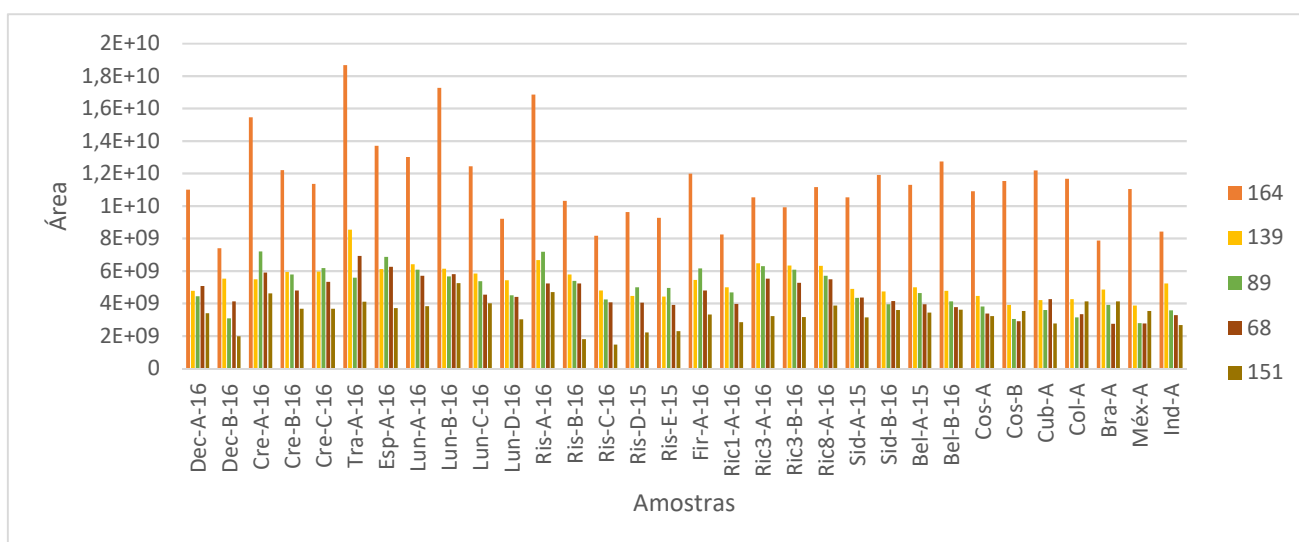


Figura 3.2 - Gráfico dos cinco compostos (nº de pico segundo a Tabela 6.1) mais intensos em todos os blends.

A Tabela 6.1, Anexo A, mostra os compostos detectados e tentativamente identificados em todos os *blends*, usando a biblioteca de espectros NIST e o critério de índices de retenção lineares. Os tempos de retenção e os índices de retenção linear (LRI) atribuídos foram obtidos com uma coluna ZB-Wax (fase polar) e com a injeção de uma mistura de hidrocarbonetos de C₈ a C₂₀ (Figura 6.1 - Anexo A).

Usou-se os índices de retenção linear experimentais (LRI_{calc}) e os índices de retenção linear da literatura (LRI_{lit}) para a criação de um gráfico, como ilustrado na Figura 3.3. Os LRI_{calc} apresentam uma relação linear quando correlacionados com os LRI_{lit}, descrita pelo coeficiente de determinação (R²) de 0,9933.

Dado que os LRI_{calc} estão correlacionados com os LRI_{lit}, para os compostos onde o LRI_{lit} existe, a adição deste dado em conjugação com a correspondência da biblioteca de

espectros da NIST torna a identificação tentativa mais provável, designadamente para os compostos cuja correspondência é superior a 850. Desta forma, foi possível encontrar na literatura LRI para 121 compostos dos 222 detectados.

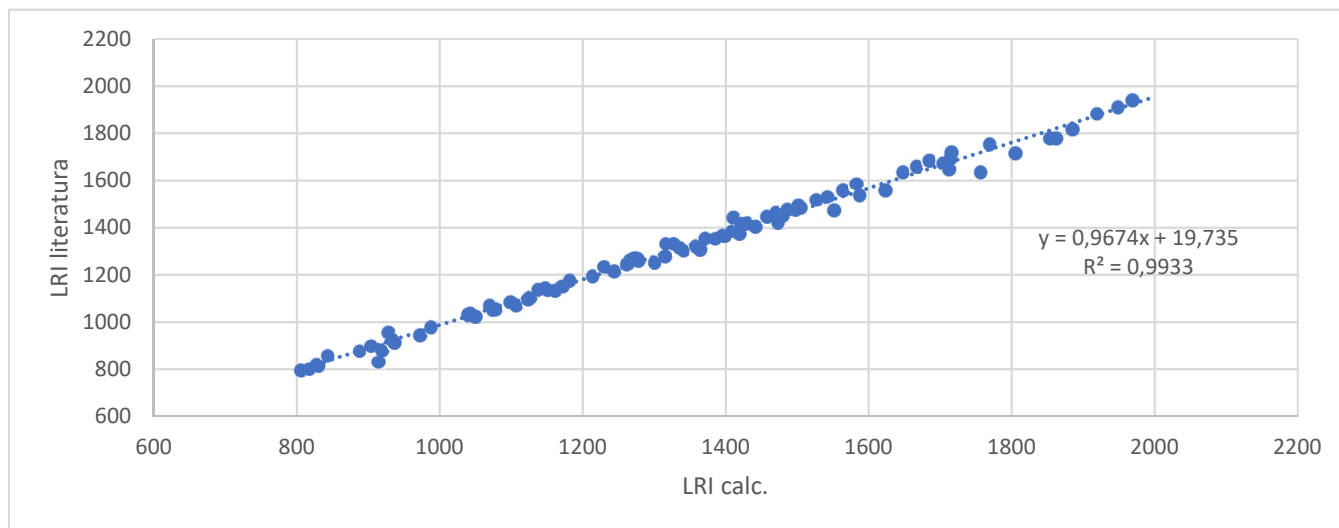


Figura 3.3 - Relação entre os índices de retenção linear calculado com os índices de retenção lineares da literatura.

O cromatograma traçado de corrente iónica total (TIC) obtido para a amostra Cre-C-16, dado que é a amostra com mais picos presentes é apresentado como exemplo da Figura 6.2 à Figura 6.8 do Anexo B.

A análise de dados revelou várias zonas de coeluição, em especial na janela de tempos de retenção onde surge o ácido acético (130, entre t_r 36,75 min a t_r de 38 min) que apresenta um pico não gaussiano, muito largo e intenso. Este facto leva a que outros picos menos intensos não possam ser detectados, embora existam, em algumas amostras em que o pico 130 se revela menos intenso (Figura 3.4).

Devido à intensidade dos picos do 2,3-dimetil-5-etilpirazina (132), furfural (133) e formato de furfural (134) ser muito intensa, foi sempre possível identificá-los em todos os cromatogramas, mesmo estando a coeluir. Contudo, o 131 não foi possível identificar em 23 das amostras (conforme indicado na Tabela 6.1 – Anexo A) por ter uma intensidade inferior à do pico 130 quando ocorria coeluição.

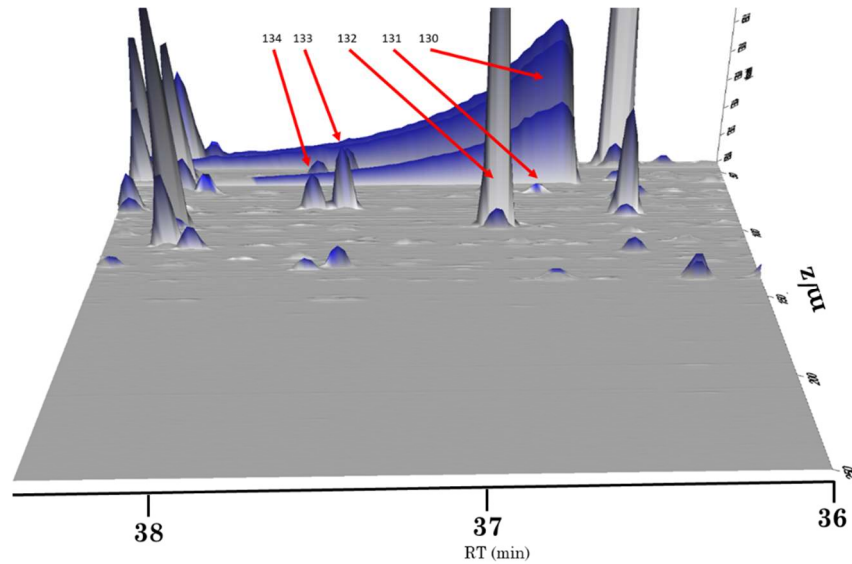


Figura 3.4 - Representação 3D do TIC em função de m/z . Ordem do eixo do tempo de retenção invertida.

Em outros segmentos do TIC podem ocorrer coeluições devido aos picos saírem em RT próximos, dando origem a picos sem forma gaussiana e sobrepostos ao longo do TIC. Contudo, usando o cromatogramas de extracção de ião (EIC) (Figura 3.5), torna-se possível verificar a existência de outros compostos que não partilhem os mesmos m/z num curto intervalo de RT. Com o método de EIC conseguiu-se identificar o composto 52 e 53, contudo o composto entre ambos não foi adicionado à tabela, pois encontrava-se em pouca quantidade tanto para semiquantificar pela área como para efectuar a identificação tentativa do mesmo.

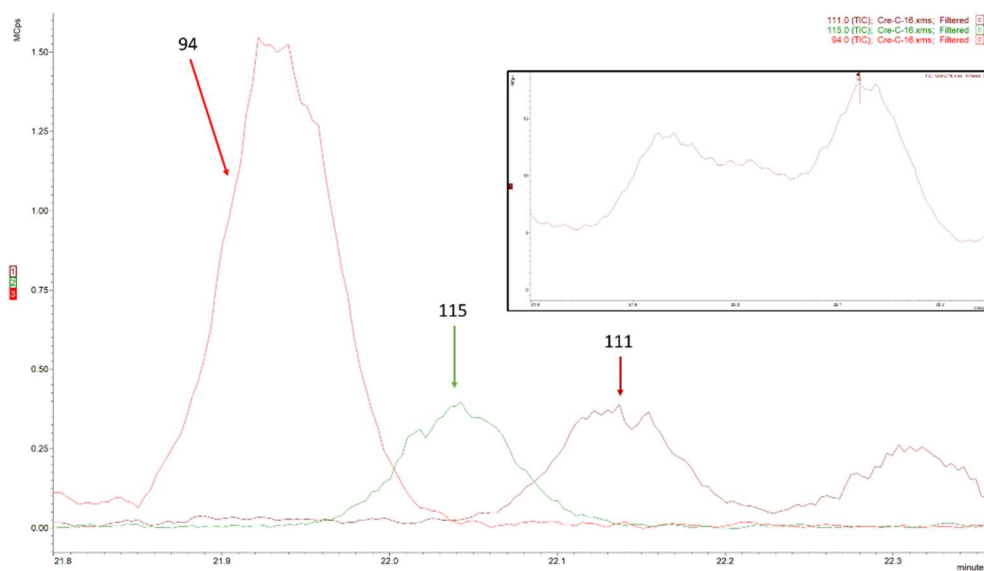


Figura 3.5 - Cromatograma EIC do composto 52 (ião 94), composto não identificado (ião 115) e composto 53 (ião 111).

No intervalo 27,70 min aos 29,00 min, quando comparados três *blends* de *ristrettos* (Ris-A-16, Ris-B-16 e Ris-E-15) obtivemos uma zona de coeluição distinta entre os três.

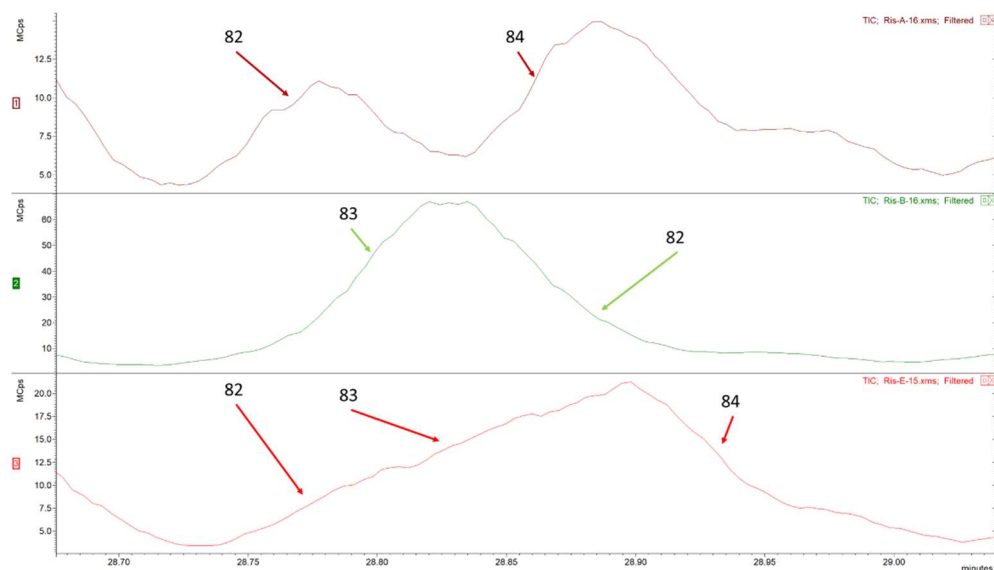


Figura 3.6 - Comparação de cromatograma EIC no intervalo 27,70 a 29,00 min com identificação do número de compostos presentes e identificados dos blends Ris-A-16, Ris-B-16 e Ris-E-16.

3.1.2 Caracterização olfativa dos compostos voláteis identificados

Após a identificação tentativa dos compostos voláteis, foi efectuada a atribuição da percepção olfactiva dominante, segundo a literatura [45], para cada um dos compostos voláteis identificados, tendo sido possível encontrar estes dados para apenas 52% dos compostos, Tabela 6.2 – Anexo A.

Foram identificados 16 compostos com aroma a nozes, 11 com aroma frutado, 9 com aroma a caramelo, 8 com aroma verde, 6 com aroma a café e 4 com aroma a chocolate. Sendo estes os principais aromas positivos identificados. Relativamente aos aromas negativos, foram identificados 6 com aroma sulfuroso, 6 com aroma a éter, 4 com aroma a peixe e 3 com aroma fenólico.

Embora esta atribuição dos aromas possa ser considerado um indicador, não leva em conta a concentração dos mesmos nem os aromas que possam adquirir quando em mistura com outros compostos por efeito sinérgico de mistura.

3.2 Tratamento de dados

Nesta secção é efectuado o tratamento de dados de cada um dos *blends*. Foram escolhidos dois tipos de normalização das áreas identificadas de cada um dos compostos:

- I. Percentagem de área total – Cada área é normalizada com base na área total do cromatograma.
- II. Base logarítmica – Todas as áreas são multiplicadas pelo logaritmo de base 10.

Com base nestes dois tipos de normalização, foi efectuado dois tipos de estudo: análise de hierárquicos (HCA) e análise de componentes principais (PCA).

3.2.1 Análise com base na percentagem de área total

3.2.1.1 Análise de aglomerados hierárquicos

Primeiramente, a tabela de todos os *blends* com todas as variáveis foi normalizada com base no valor total de área do TIC para cada *blend*, originando uma tabela com todos os valores compreendidos entre 0 e 100%. Foi então efectuada a análise de aglomerados hierárquicos (HCA), usando o método de aglomerados de ligações completas usando o quadrado das distâncias euclidianas, com o objectivo de encontrar semelhanças entre os *blends* de cafés. O dendograma obtido, baseado nas áreas de cada um dos compostos voláteis identificados, é mostrado na Figura 3.7.

Os resultados mostram que de acordo com a sua composição química volátil, os *blends* podem ser divididos em dois grupos, sendo posteriormente subdivididos em 8 grupos à distância de euclidiana ao quadrado de 3. O primeiro grupo é composto maioritariamente de *blends* de uma origem única e 100% arábica, embora existam *outliers*, nomeadamente Lun-B-16, Ris-A-16 e Tra-A-16.

O segundo grupo contém dois subgrupos bem definidos à distância de euclidiana ao quadrado de 6, sendo que o primeiro subgrupo contém a amostra Bra-A individualizada, um subgrupo que contém *blends* entre 100% a 80% de arábica e de diferentes origens geográficas (com excepção de Sid-A-15 e Bel-A-15) e um subgrupo constituído apenas por um *blend* de 100% arábica e descafeinado (Dec-A-16). O último subgrupo é constituído por *blends* compostos por 80% a 100% de arábica, um subgrupo onde se verifica a inclusão da *blend* Ind-A, que é constituída por 100% robusta e de uma única origem geográfica, e do *blend* Dec-B-16,

que é constituído por 100% arábica e descafeinado. Por fim, observa-se o agrupamento dos *blends* de *ristretto*, com excepção do Ris-A-16, e a separação destes com base no ano do lote.

A análise do HCA sugere uma existência de semelhanças entre os *blends* de origem geográfica única e 100% arábica, com excepção do *blend* Bra-A. Verificou-se também a separação dos *ristrettos*, inclusive por ano de lote, com excepção do Ris-A-16. Verifica-se também um distanciamento do *blend* 100% robusta e de origem geográfica única Ind-A dos outros *blends* de origem geográfica única e 100% arábica.

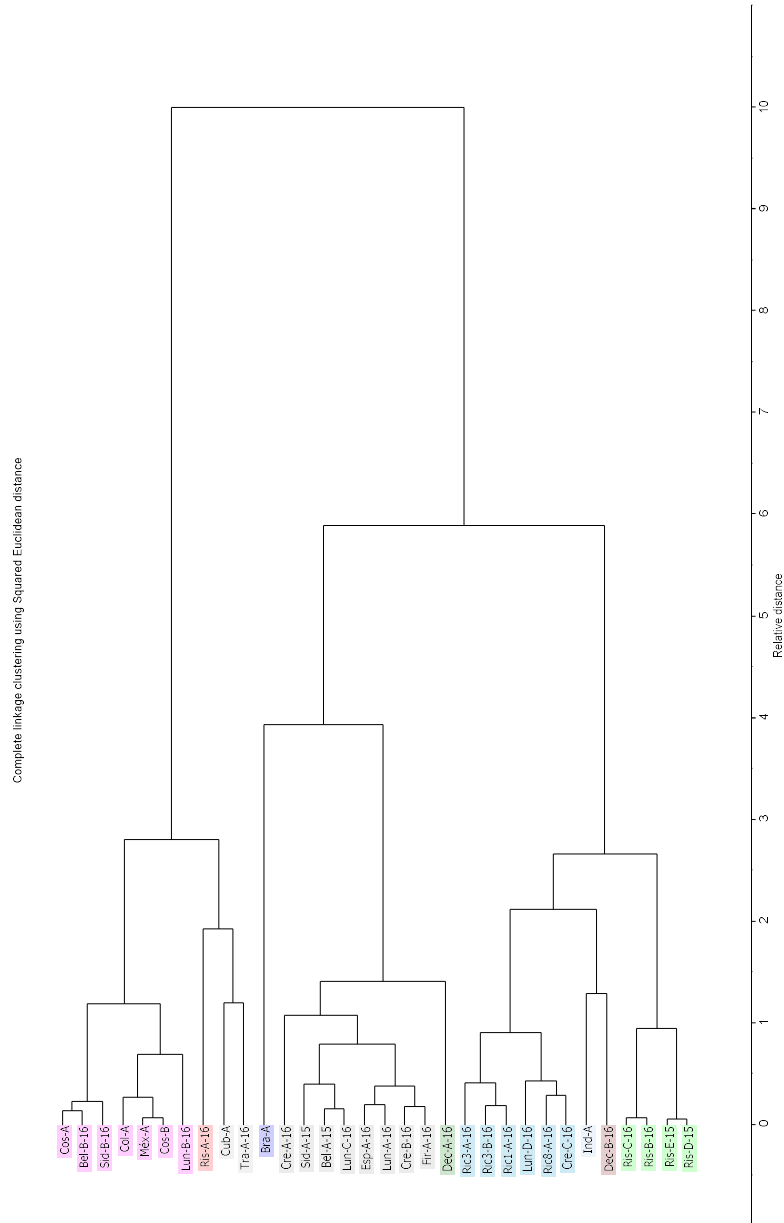


Figura 3.7 - Dendrograma da análise de aglomerados hierárquicos de todos os blends, baseado em todos os compostos voláteis.

3.2.1.2 Análise de componentes principais

Com o objectivo de identificar os compostos associados com a hierarquização das amostras, uma análise de componentes principais (PCA) foi efectuada, tratando os *blends* como objectos e os compostos voláteis como variáveis. Os resultados para a PCA nos dados das percentagens da área total estão referidos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Eigenvalues e variância total da análise de componentes principais a partir da percentagem da área total dos compostos voláteis dos blends.

Factor	Eigenvalue	% Variância total	Eigenvalue cumulativo	% cumulativa
1	46,90	66,32	46,90	66,32
2	8,63	12,21	55,53	78,53
3	6,14	8,69	61,67	87,22
4	3,05	4,32	64,73	91,54
5	1,85	2,61	66,57	94,14
6	1,25	1,77	67,82	95,91
7	0,67	1,72	68,50	97,64

Os três primeiros factores explicam 87,22% da variância total, com 66,32%, 12,21% e 8,69% para os componentes 1, 2 e 3, respectivamente. Os dados da percentagem da área total produziram o gráfico com os primeiros dois componentes conforme mostrado na Figura 3.8, onde 78,53% da variância é explicada.

No gráfico de PCA podemos observar três grandes grupos. O grupo a verde, no quadrante I, refere-se aos *ristrettos*, entanto entre eles separados com base no ano do lote, com excepção ao *ristretto* Ris-A-16. O segundo grupo a laranja, quadrante I e IV, refere-se aos *blends* com 80% de arábica. Por último, obtemos um grande grupo, quadrante II e III, onde temos os *blends* com 100% arábica claramente separados dos restantes e na segunda metade do gráfico, com excepção de três que se encontram juntos (Ris-A-16, Cre-A-16 e Dec-A-16) e estando três *blends* fora deste agrupamento (Lun-D-16, Ric8-A-16 e Bra-A).

Esta separação torna-se mais clara quando conjugamos as três primeiras componentes num gráfico em 3D, Figura 3.9, obtendo assim uma separação completa entre *blends* de diferentes percentagens de arábica/robusta. Este acréscimo na separação dos *blends* por quantidade de arábica presente justifica-se com o acréscimo de variância de 78,58% para 87,22%.

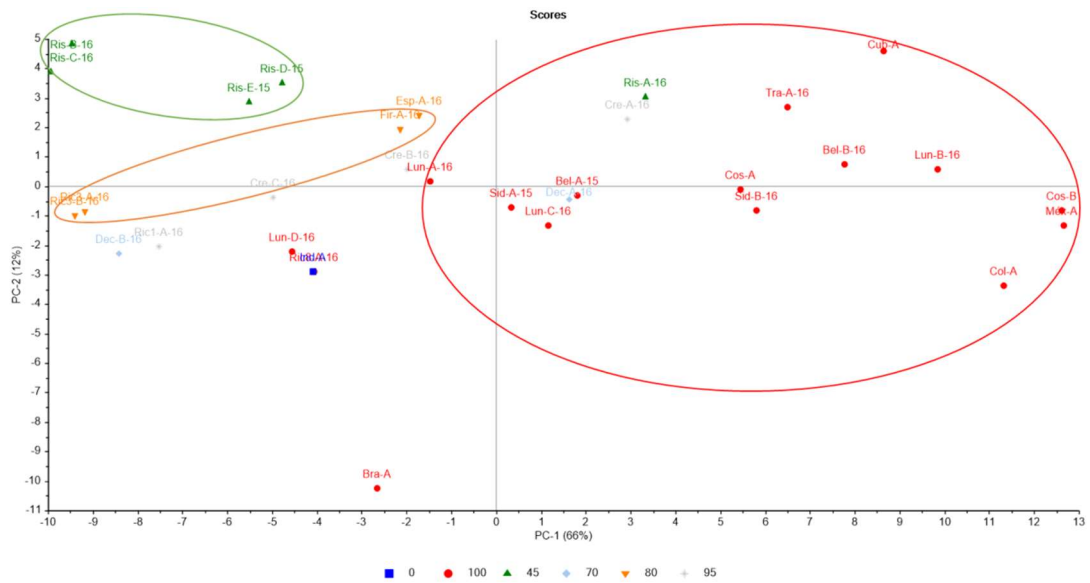


Figura 3.8 - Análise de componentes principais para os dados da percentagem da área total para os diferentes blends estudados - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.

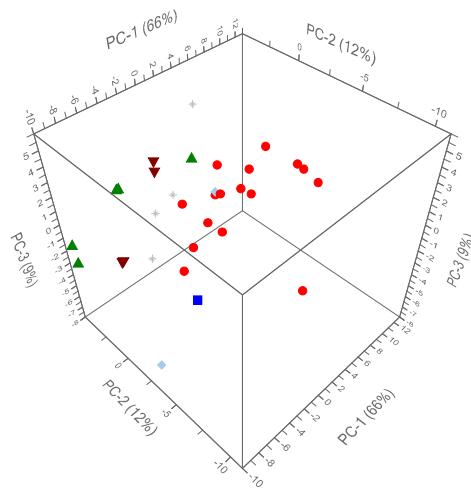


Figura 3.9 - Análise 3D da componente principal 1, 2 e 3 para os dados da percentagem da área total para os diferentes blends estudados.

De forma a identificar quais dos voláteis (*loadings*) estão associados com os *blends* (*scores*), as projecções dos *loadings* foram analisados para as primeiras duas componentes. A projecção dos *loadings* no plano dos factores para as duas primeiras componentes é demonstrado na Figura 3.10.

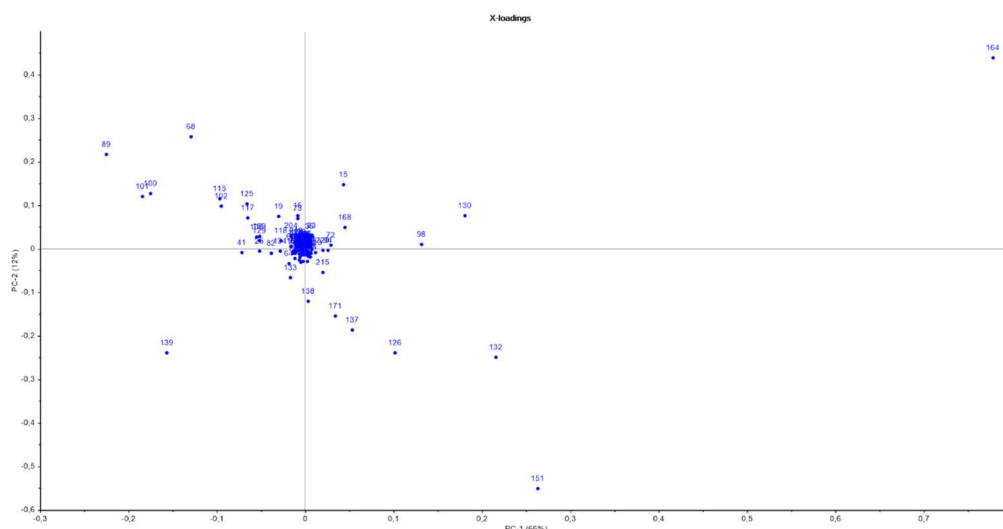


Figura 3.10 - Projecção dos loadings no plano de factores para as primeiras duas componentes - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.

Os dados dos *loadings* (projecção dos *loadings*, Figura 3.10, e Tabela 3.2), mostram que as maiores associações para a componente 1 podem ser encontradas para os compostos voláteis 2-furano-metanol (164), 5-metil-furfuril (151), furfural (132), ácido acético (130) e 1-hidróxi-2-propanona (98). Relativamente à componente 2, a maior associação pode ser encontrada para os compostos voláteis 2-furano-metanol (164), piridina (68), metil-piridina (89), acetona (15) e 2,5-dimetil-pirazina (100).

Composto nº	PC-1	Composto nº	PC-2
164	0,78	164	0,44
151	0,26	68	0,26
132	0,22	89	0,22
130	0,18	15	0,15
98	0,13	100	0,13

Tabela 3.2 - Cinco loadings da percentagem de área total com valores mais altos para a componente 1 e 2. (A identificação dos compostos encontra-se no texto).

3.2.2 Análise com normalização com logaritmo de base 10

3.2.2.1 Análise de aglomerados hierárquicos

Primeiramente, a tabela de todos os *blends* com todas as variáveis foi normalizada com o logaritmo à base 10. Foi então efectuada a HCA, usando o método de aglomerados de ligações completas usando o quadrado das distâncias euclidianas, com o objectivo de encontrar semelhanças entre os *blends* de cafés. O dendograma obtido, baseado nas áreas de cada um dos compostos voláteis identificados, é mostrado na Figura 3.11.

Os resultados mostram que, de acordo com a sua composição química volátil, os *blends* podem ser divididos em quatro grupos principais.

No primeiro grupo encontram-se maioritariamente os *blends* de origem única e 100% arábica, com excepção do *blend* Ind-A composto por 100% robusta. Verifica-se a separação com base no ano do lote de Bel-B-16 e Sid-B-16 de Bel-A-15 e Sid-A-15. Nos grupos 2, 3 e 4 verifica-se um conjunto de *blends* de diferentes origens geográficas e diferentes percentagem de arábica distribuído aleatoriamente. Contudo, é possível verificar o distanciamento dos dois *blends* de descafeinados Dec-A-16 e Dec-B-16, da posição distante do Ind-A relativamente aos *blends* de origem geográfica única e 100% arábica e, por fim, do agrupamento dos *ristrettos* com base no ano do lote, nomeadamente, Ris-B-16 e Ris-C-16 dos Ris-D-15 e Ris-E-15, embora o Ris-A-16 se encontre separado destes.

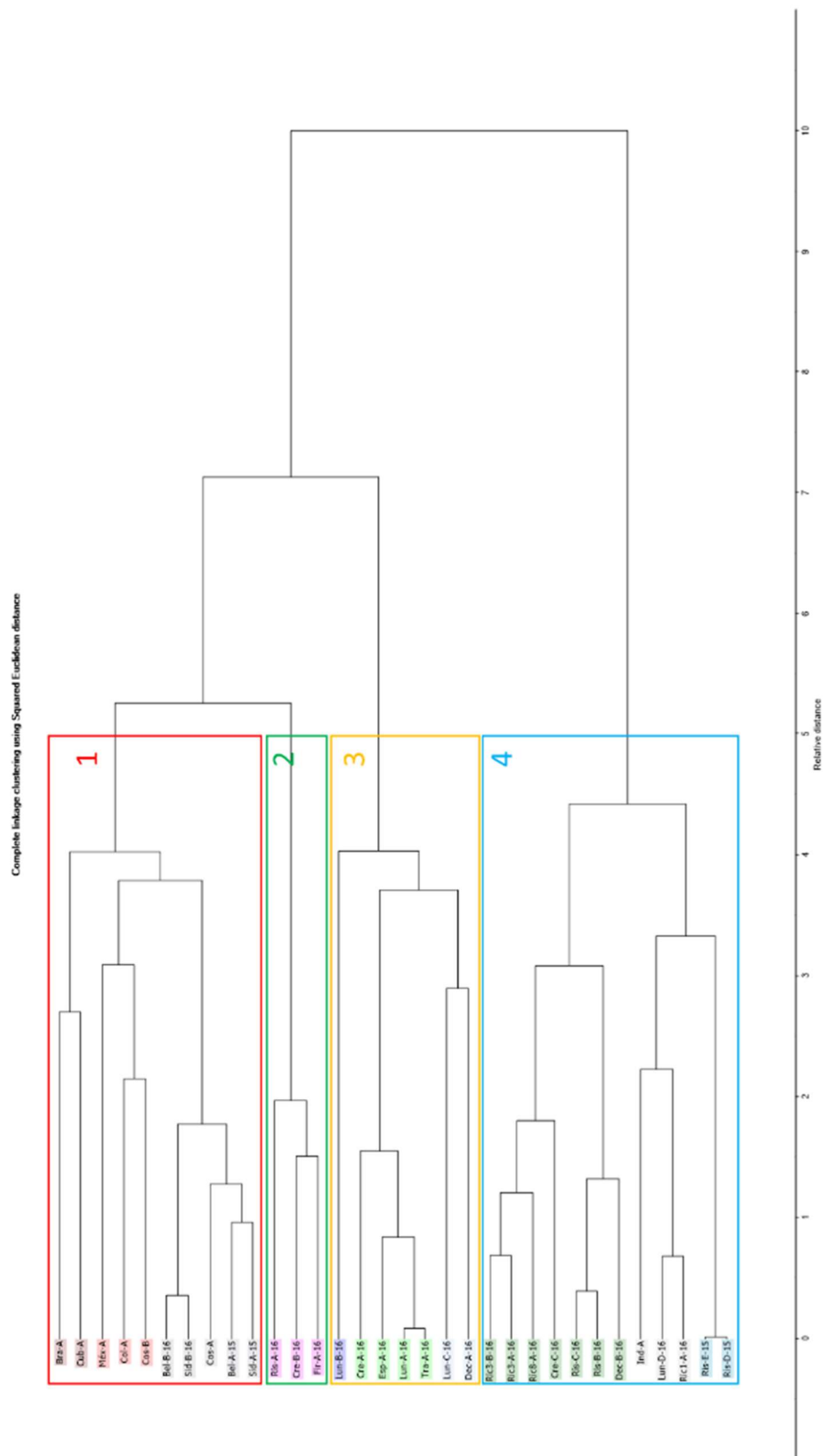


Figura 3.11 - Dendrograma da análise de aglomerados hierárquicos de todos os blends, baseado em todos os compostos voláteis normalizados com logaritmo de base 10.

3.2.2.2 Análise de componentes principais

Com o objectivo de identificar os compostos associados com a hierarquização das amostras, foi efectuada uma PCA, tratando os *blends* como amostras e os compostos voláteis como variáveis. Os resultados para a PCA nos dados das percentagens da área total estão referidos na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Eigenvalues e variância total da análise de componentes principais a partir da normalização com logaritmo de base 10 dos compostos voláteis dos blends.

Factor	Eigenvalue	% Variância total	Eigenvalue cumulativo	% cumulativa
1	86,79	31,73	86,79	31,73
2	49,21	17,99	135,99	49,72
3	22,16	8,10	158,15	57,82
4	17,35	6,34	175,50	64,17
5	14,86	5,43	190,37	69,60
6	12,69	4,64	203,06	74,25
7	10,19	3,72	213,25	77,97

Os três primeiros factores explicam 57,82% da variância total, com 31,73, 17,99 e 8,10 para os componentes 1, 2 e 3, respectivamente. Os dados da percentagem da área total produziram o gráfico com os primeiros dois componentes conforme mostrado na Figura 3.12, onde 48,72% da variância é explicada.

No primeiro gráfico de PCA (Figura 3.12) é possível observar um agrupamento com base nos diferentes tipos de lotes (rosa), maioritariamente no quadrante II. Os *blends* de origem geográfica única encontram-se agrupados com excepção do Ind-A que se encontra no extremo oposto, quadrante I, podendo ser justificada esta excepção por este *blend* não conter arábica. No gráfico de PCA observa-se a separação dos *blends premium* (cinza), quadrante II, com separação evidente com base no ano do lote. Por fim, verifica-se o agrupamento dos *ristretto*, *quadrantes I e IV*, mas separados por ano de lote, com excepção para o Ris-A-16. A separação observada de *blends* iguais mas de anos diferentes, pode evidenciar degradação temporal dos mesmos.

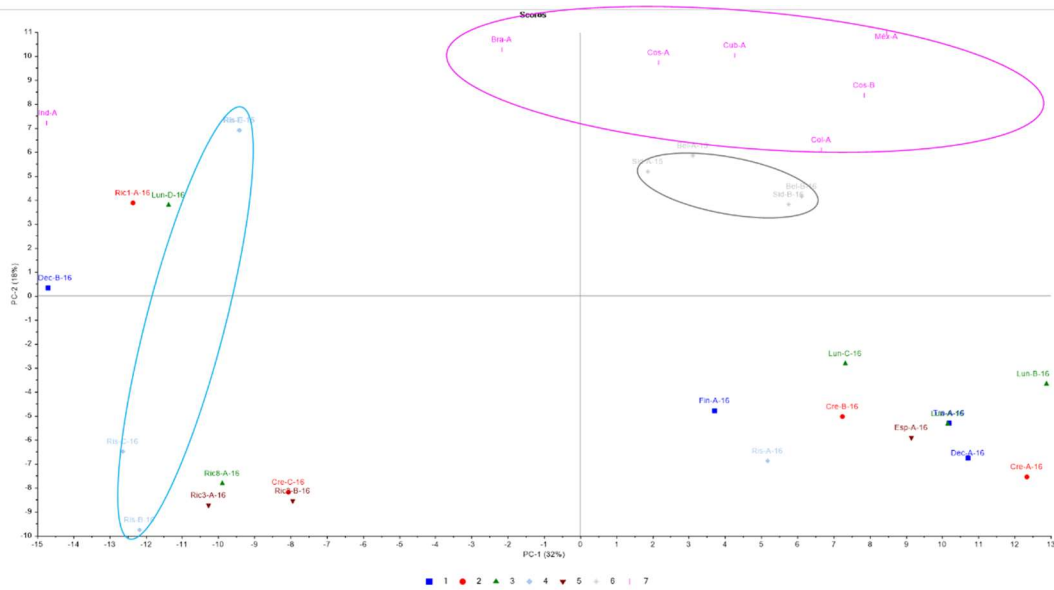


Figura 3.12 - Análise de componentes principais para os dados da normalização com logaritmo de base 10 para os diferentes blends estudados (1 - Vários, 2 - Cremoso, 3 - Lungo, 4 - Ristretto, 5 - Espresso, 6 - Premium e 7 - Origem geográfica única), agrupados com base na semelhança de lote (azul claro - ristretto, rosa - origem geográfica única e cinza - premium) - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.

Usando o mesmo gráfico de PCA, mas agrupando as amostras com base no teor de arábica, foi possível verificar um agrupamento coerente (Figura 3.13).

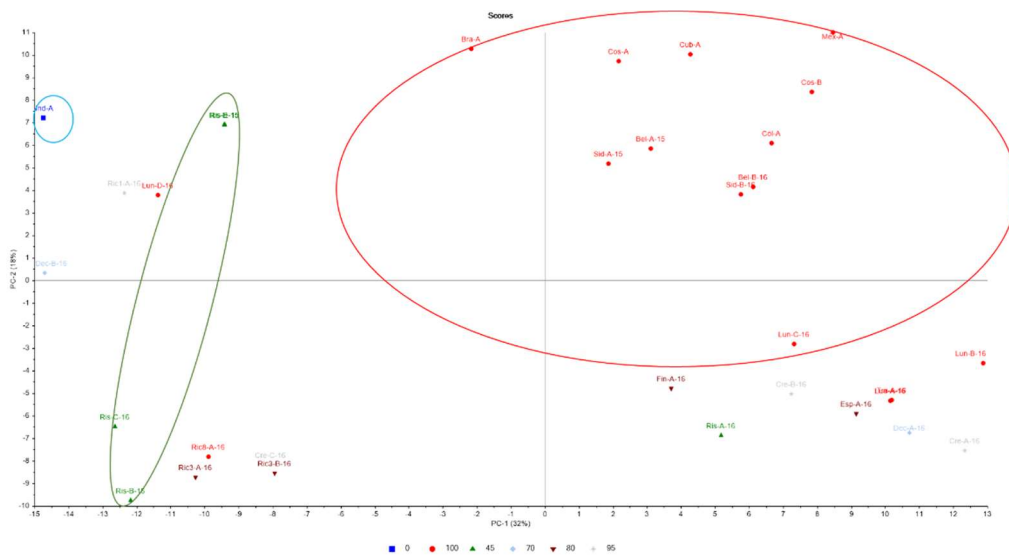


Figura 3.13 - Análise de componentes principais para os dados da normalização com logaritmo de base 10 para os diferentes blends estudados, agrupados com base na semelhança de lote (azul claro - 0% arábica, verde - 45% arábica e vermelho - 100% arábica) - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.

Observa-se a existência de um grande grupo de *blends* 100% arábica (vermelho), maioritariamente no quadrante II, novamente um grupo dos *ristrettos* (verde) separados com base no ano de lote (2015 no quadrante I e 2016 no quadrante IV) e, por fim, verifica-se o distanciamento e isolamento do *blend* Ind-A no quadrante I.

De forma a identificar quais dos voláteis (*loadings*) estão associados com os *blends* (*scores*), as projecções dos *loadings* foram analisados para as primeiras duas componentes. A projecção dos *loadings* no plano dos factores para as duas primeiras componentes é demonstrado na Figura 3.14.

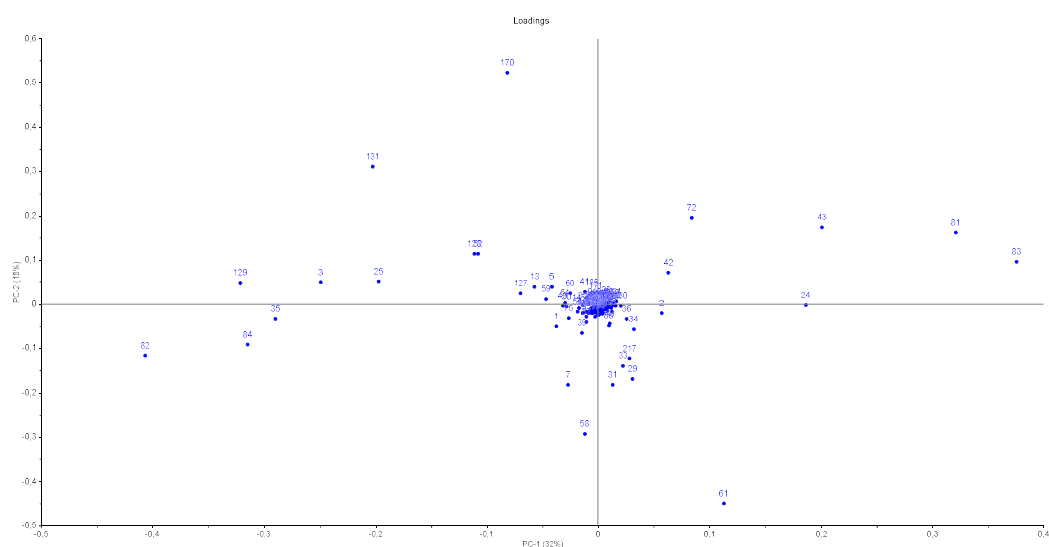


Figura 3.14 - Projecção dos *loadings* normalizados com logaritmo de base 10 no plano de factores para as primeiras duas componentes - Quadrantes I a IV atribuídos na ordem do relógio a partir do topo esquerdo.

Os dados dos *loadings* (projecção dos *loadings*, Figura 3.14, e Tabela 3.2), mostram que as maiores associações para a componente 1 podem ser encontradas para os compostos voláteis acetato de 3-metil-2-buten-1-ol (83), ocimeno (81), 1-metil-3-piperidina (43), t-butil nitrito (24) e 3,5-dimetil-oxazole (61). Relativamente à componente 2, a maior associação pode ser encontrada para os compostos voláteis 2-furfuril-5-metilfurano (170), 2,3-dimetil-5-etilpirazina (131), 2-acetoxi-1-metoxipropano (72), 1-metil-3-piperidina (43) e ocimeno (81).

Tabela 3.4 - Cinco loadings normalizados com logaritmo de base 10 com valores mais altos para a componente 1 e 2.

Composto nº	PC-1	Composto nº	PC-2
83	0,38	170	0,52
81	0,32	131	0,31
43	0,20	72	0,19
24	0,19	43	0,17
61	0,11	81	0,16

Com o objectivo de determinar quais os compostos voláteis que influenciam a diferenciação de *blends* de lotes de diferentes anos, foi efectuada uma PCA apenas com *blends ristretto* (excepto Ris-A-16) (Figura 3.15) e outra com *blends premium*, obtendo-se o seguinte PCA (Figura 3.16).

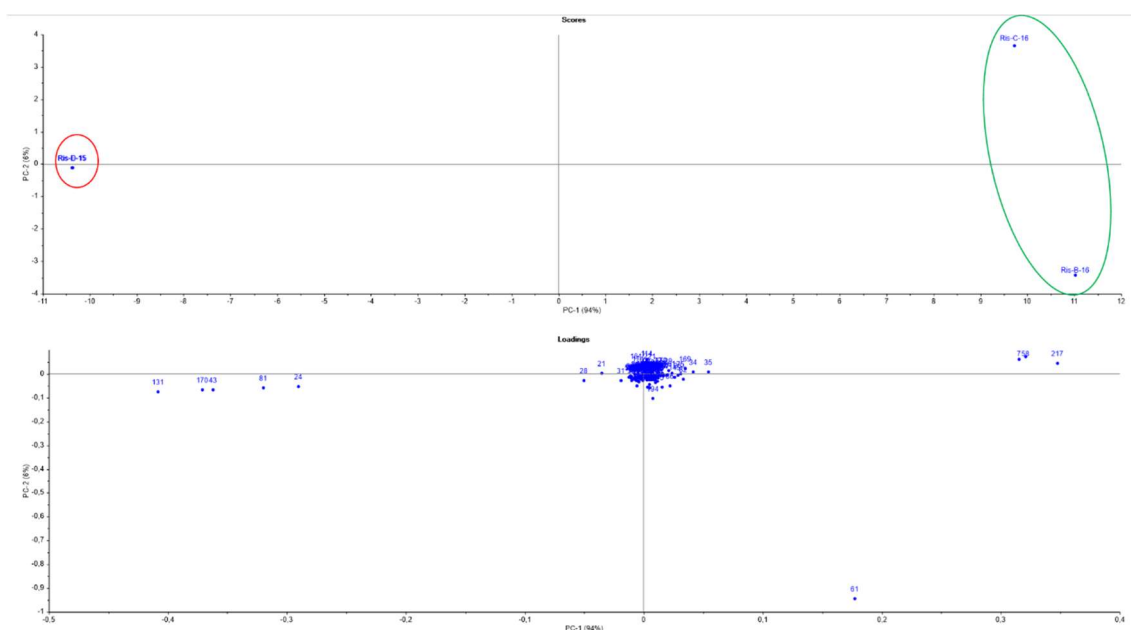


Figura 3.15 - Conjugação do gráfico de componentes principais e projecção de loadings para os ristretto (excepto Ris-A-16).

Obteve-se uma PCA com 94% na componente 1 e 6% na componente 2 onde se verificou a separação dos lotes de 2015 (vermelho) dos de 2016 (verde) e, nestes últimos, verificou-se ainda uma separação na componente 2. Analizando a Tabela 3.5, podemos verificar que os lotes de 2016 são distintos dos de 2015 na componente 1 pelo furaneol (217), β -pineno (58), hidrocarboneto não identificado (7), 3,5-dimetil-oxazole (61) e 1-butilpirrolidina (35). Os

blends de ristretto dos lotes de 2016 são distintos na componente 2 pelo β -pineno (58), 2-metil-2-ciclopenten-1-ona (114), hidrocarboneto não identificado (7), furaneol (217) e 1-etil-2-formil pirrole (161).

Tabela 3.5 - Cinco loadings normalizados com logaritmo de base 10 com valores mais altos para a componente 1 e 2 dos blends ristrettos (excepto Ris-A-16) com indicação de presença (verde) e ausência (vermelho).

Composto nº	PC-1	Ris-B-16	Ris-C-16	Ris-D-15	Ris-E-15
217	0,35				
58	0,32				
7	0,32				
61	0,18				
35	0,05				
Composto nº	PC-2	Ris-B-16	Ris-C-16	Ris-D-15	Ris-E-15
58	0,07				
114	0,06				
7	0,06				
217	0,05				
161	0,03				

Efectuou-se o mesmo procedimento para os blends premium.

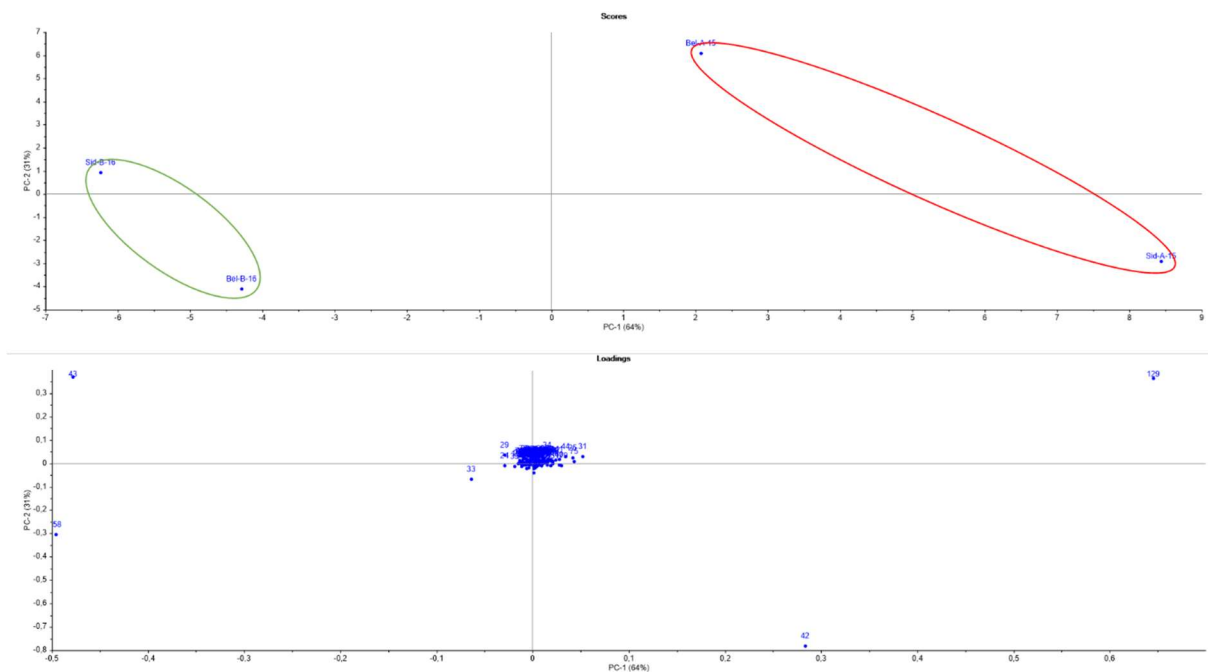


Figura 3.16 - Conjugação do gráfico de componentes principais e projecção de loadings para os premium.

Obteve-se uma PCA com 64% na componente 1 e 31% na componente 2 onde se verificou a separação dos lotes de 2015 (vermelho) dos de 2016 (verde) e, entre eles, verificou-

se ainda uma separação na componente 2. Analizando a Tabela 3.6, podemos verificar que os lotes de 2016 são distintos dos de 2015 na componente 1 pelo 2,3-dietilpirazina (129), α -pineno (42), desconhecido (31), desconhecido (75) e 1-metilpiperidine (25). Os *blends* de 2016 são separados na componente 2 pelo 1-metil-3-piperideína (43), 2,3-dietilpirazina (129), hidrocarboneto não identificado (29), 2,4-dimetilfurano (34) e desconhecido (31).

Tabela 3.6 - Cinco loadings normalizados com logaritmo de base 10 com valores mais altos para a componente 1 e 2 dos blends premium com indicação de presença (verde) e ausência (vermelho).

Composto nº	PC-1	Bel-B-16	Sid-B-16	Bel-A-15	Sid-A-15
129	0,65				
42	0,28				
31	0,05				
75	0,04				
25	0,04				
Composto nº	PC-2	Bel-B-16	Sid-B-16	Bel-A-15	Sid-A-15
43	0,37				
129	0,36				
29	0,04				
34	0,03				
31	0,03				

4 Conclusão

Anteriormente a este trabalho, a técnica de detecção do perfil volátil de café por HS-SPME GC/MS já se encontrava efectuada, para diferentes variedades e marcas de cafés, inclusive com a análise por PCA para determinação de compostos determinantes para a distinção de diferentes *blends*.

Neste trabalho foi efectuada o estudo da composição volátil dos vários *blends* da marca Mocoffee, estes são elaborados com base em receitas exclusivas da marca onde a origem geográfica e a proporção de arábica é criteriosamente seleccionada de forma a criar produtos únicos e exclusivos da marca. O estudo químico destes *blends* ainda não tinha sido efectuada, pelo que este trabalho concentrou-se no estudo do perfil volátil com a elaboração de estudos por PCA de forma a identificar diferenças para a elaboração de um futuro método de controlo de qualidade por HS-SPME GC/MS.

O uso do método clássico de GC/MS permitiu a identificação de 222 compostos, destes 172 compostos foram identificados tentativamente com o uso da biblioteca de espectros NIST e dos índices de retenção lineares (LRI). Dos 172 compostos identificados, 51,2% foram identificados com uma correspondência com a biblioteca acima de 80%.

O método GC/MS revelou-se útil na identificação de grande parte dos compostos com maior intensidade, mas insuficiente nos compostos com intensidades baixas, entre $1E6$ a $1E7$, e na capacidade de resolução de zonas de coeluição, nomeadamente no intervalo do ácido acético, pelo que seria útil a utilização de MD-GC/MS, GCxGC-FID ou GC-TOF-MS para conseguir analisar e identificar os compostos presentes na totalidade.

Através da PCA foi possível identificar correlações entre *blends* de origens geográficas únicas e conjuntos de *blends* com semelhanças tanto de origem geográfica como percentagem de arábica. Contudo, existem *blends* que não foram possíveis de separar com exactidão, nomeadamente os *blends* com 70%, 80% e 95% de arábica. Isto pode dever-se à utilização de amostras de café de origens não controlada antes do encapsulamento, uma solução seria analisar a composição de compostos voláteis característica antes de serem encapsulados e verificar a existência de fraude na composição das cápsulas..

O *blend* Bra-A foi, de todos estudados, o embalado mais recentemente e isso verificou-se na separação deste *blends* dos restantes tanto nos PCA efectuados como nos HCA. Provavelmente um factor de degradação e logo de tempo de validade, poderá não ser despreciando em estudos futuros.

Dos dois métodos de tratamento de dados, a análise com base na percentagem de área total foi o que permitiu uma separação mais evidente dos *blends* em termos de mistura de arábica/robusta, enquanto que a análise com normalização de logaritmo de base 10 permitiu alcançar a separação de *blends* pelo tipo de lote a que pertenciam e a separação com base na mistura de arábica/robusta, embora com variâncias menores do que o método anterior.

De forma a possibilitar o uso de HS-SPME GC/MS no controlo de qualidade e detecção de fraude, seria útil identificar compostos voláteis que permitissem a diferenciação dos *blends* com base tanto na origem geográfica como na percentagem de mistura arábica/robusta, tal não foi possível com este estudo, ou a elaboração de um método de análise automático e preciso de cada um dos cromatogramas, seja por estudo de PCA directamente nos cromatogramas, seja com o uso de software de detecção automático de compostos e elaboração de tabelas para o uso em PCA. Destes, o mais preciso e adequado ao controlo de qualidade na indústria seria através da identificação de compostos únicos e a posterior monitorização dos mesmos.

Embora seja possível implementar HS-SPME GC/MS como a metodologia analítica para controlo de qualidade, seria preferível o uso de cromatografia multidimensional abrangente (GC × GC). Pois, o facto de cada um dos *blends* representar uma matriz muito complexa e com várias zonas de coeluição, o uso de cromatografia multidimensional abrangente (GC × GC) para a detecção e identificação dos compostos é o mais indicado, uma vez que permite aumentar a separação de cada um dos compostos e permitir a desconvolução das zonas de coeluição. Esta metodologia analítica permite ainda o uso de análise de imagem para implementação de um método rápido e fiável de detecção de fraudes.

5 Bibliografia

- [1] Wang, X., William, J., Fu, Y., Lim, L.-T., *Food Research International*, 2016, 89, 1-26. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.09.031
- [2] Oestreich-Janzen, S., *Chemistry of Coffee - Comprehensive Natural Products II, Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology*, Elsevier Inc., **2010**, 1086.
- [3] Oestreich-Janzen, S., *Chemistry of Coffee - Comprehensive Natural Products II, Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology*, Elsevier Inc., **2010**, 1087.
- [4] Hamon, P., Hamon, S., Razafinarivo, N. J., Guyot, R., Siljak-yakovlev, S., Couturon, E., Crouzillat, D., Rigoreau, M., Akaffou, S., Rakotomalala, J., De Kochko, A., *Coffee Heal. Dis. Prev.*, **2015**, 29–37. DOI:10.1016/B978-0-12-409517-5.00004-8
- [5] Rodrigues, W. P., Machado Filho, J. A., Da Silva, J. R., De Assis Figueiredo, F. A. M. M., Ferraz, T. M., Ferreira, L. S., Da Silva Bezerra, L. B., De Abreu, D. P., De Paula Bernado, W., Cespom Passos, L., De Sousa, E. F., Glenn, D. M., Ramalho, J. C., Campostrini, E., *Sci. Hortic.*, **2016**, 211, 194–202. DOI: 10.3389/fpls.2017.00932
- [6] Mondello, L., Costa, R., Tranchida, P. Q., Dugo, P., Lo Presti, M., Festa, S., Fazio, A., Dugo, G., *J. Sep. Sci.*, **2005**, 28, 1101–1109. DOI: 10.1002/jssc.200500026
- [7] Bröhan, M., Huybrighs, T., Wouters, C., Van der Bruggen, B., *Food Chem.*, **2009**, 116, 480–483. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.02.072
- [8] De Luca, S., De Filippis, M., Bucci, R., Magrì, A. D., Magrì, A. L., Marini, F., *Microchem. J.*, **2016**, 129, 348–361. DOI: 10.1016/j.microc.2016.07.021
- [9] Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisut, P., Siriamornpun, S., *Int. J. Food Sci. Technol.*, **2011**, 46, 2287–2296. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2011.02748.x
- [10] Mancha Agresti, P. D. C., Franca, A. S., Oliveira, L. S., Augusti, R., *Food Chem.*, **2008**, 106, 787–796. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.06.019
- [11] Kucˇera, L., Papoušek, R., Kurka, O., Barták, P., Bednárˇ, P., *Food Chem.*, **2016**, 199, 727–735. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.12.080
- [12] Fabbri, A., Cevoli, C., Alessandrini, L., Romani, S., *J. Food Eng.*, **2011**, 105, 264–269. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2011.02.030
- [13] Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Bertè, F., Gazzani, G., *J Agric Food Chem*, **2000**, 1449–1454. DOI: 10.1021/jf990510g

- [14] Vignoli, J. A., Viegas, M. C., Bassoli, D. G., Benassi, M. de T., *Food Res. Int.*, **2014**, 61, 279–285. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.06.006
- [15] Wang, H. Y., Qian, H., Yao, W. R., *Food Chem.*, **2011**, 128, 573–584. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.03.075
- [16] Bicchi, C. P., Binello, A. E., Legovich, M. M., Pellegrino, G. M., Vanni, A. C., *J. Agric. Food Chem.*, **1993**, 41, 2324–2328. DOI: 10.1021/jf00036a020
- [17] Kallio, H., Leino, M., Koullias, K., Kallio, S., Kaitaranta, J., *Food Chem.*, **1990**, 36, 135–148. DOI: 10.1016/0308-8146(90)90097-N
- [18] Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., Rege, D. V., *Handb. Indices Food Qual. Authent.*, **1997**, 472.
- [19] Farah, A., De Paulis, T., Trugo, L. C., Martin, P. R., *J. Agric. Food Chem.*, **2005**, 53, 1505–1513. DOI: 10.1021/jf048701t
- [20] Bicchi, C. P., Binello, A. E., Pellegrino, G. M., Vanni, A. C., *J. Agric. Food Chem.*, **1995**, 43, 1549–1555. DOI: 10.1021/jf00054a025
- [21] Stalmach, A., Mullen, W., Nagai, C., Crozier, A., *Brazilian J. Plant Physiol.*, **2006**, 18, 253–262. DOI: 10.1590/S1677-04202006000100018
- [22] Fadai, N. T., Melrose, J., Please, C. P., Schulman, A., Van Gorder, R. A., *Int. J. Heat Mass Transf.*, **2017**, 104, 787–799. DOI:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.08.083
- [23] Lima, R. B., Dos Santos, T. B., Vieira, L. G. E., Ferrarese, M. D. L. L., Ferrarese-Filho, O., Donatti, L., Boeger, M. R. T., Petkowicz, C. L. D. O., *Carbohydr. Polym.*, **2013**, 93, 135–143. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.05.015
- [24] Praxedes, S. C., DaMatta, F. M., Loureiro, M. E., Maria, M. A., Cordeiro, A. T., *Environ. Exp. Bot.*, **2006**, 56, 263–273. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.02.008
- [25] Rocha, S., Maeztu, L., Barros, A., Cid, C., Coimbra, M. A., , *J. Sci. Food Agric.*, **2004**, 84, 43–51. DOI: 10.1002/jsfa.1607
- [26] Kemsley, E. K., Ruault, S., Wilson, R. H., *Food Chem.*, **1995**, 54, 321–326. DOI: 10.1016/0308-8146(95)00030-M
- [27] Cagliani, L. R., Pellegrino, G., Giugno, G., Consonni, R., *Talanta*, **2013**, 106, 169–173. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.12.003
- [28] Wermelinger, T., D'Ambrosio, L., Klopprogge, B., Yeretian, C., , *J. Agric. Food Chem.*, **2011**, 59, 9074–9079. DOI: 10.1021/jf201918a

- [29] Sanz, C., Maeztu, L., Jose Zapelena, M., Bello, J., Cid, C., , *J. Sci. Food Agric.*, **2002**, 82, 840–847. DOI: 10.1002/jsfa.1110
- [30] Aerts, R., Geeraert, L., Berecha, G., Hundera, K., Muys, B., De Kort, H., Honnay, O., *Agric. Ecosyst. Environ.*, **2017**, 237, 75–79. DOI: 10.1016/j.agee.2016.12.023
- [31] Marquetti, I., Link, J. V., Lemes, A. L. G., Dos S. Scholz, M. B., Valderrama, P., Bona, E., *Comput. Electron. Agric.*, **2016**, 121, 313–319. DOI: 10.1016/j.compag.2015.12.018
- [32] Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., Rege, D. V., *Handb. Indices Food Qual. Authent.*, **1997**, 469.
- [33] Petracco, M., *Coffee: Recent Developments*, **2008**, 140–164 DOI: 10.1002/9780470690499.ch7
- [34] Parenti, A., Guerrini, L., Masella, P., Spinelli, S., Calamai, L., Spugnoli, P., *J. Food Eng.*, **2014**, 121, 112–117. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.08.031
- [35] Mateus, E., *Characterization of Pinus spp. Needles by gas chromatography and mass spectrometry: application to plant-insect interactions*, Faculdade de ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, **2009**. Tese de Doutoramento.
- [36] Jennings W. G., Filsoof, M., *J. Agric. Food Chem.*, **1977**, 25, 440–445. DOI: 10.1021/jf60211a027
- [37] A. Chaintreau, *Flavour Fragr. J.*, **2001**, 16, 136–148. DOI: 10.1002/ffj.967
- [38] Arthur, C. L., Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 2145–2148. DOI: 10.1021/ac00218a019
- [39] Louch, D., Motlagh, S., Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 1187–1199. DOI: 10.1021/ac00034a020
- [40] J. Pawliszyn, *Handbook of Solid Phase Microextraction*, **2012**, 13.
- [41] Risticvic, S., Carasek, E., Pawliszyn, J., *Anal. Chim. Acta*, **2008**, 617, 72–84. DOI: 10.1016/j.aca.2008.04.009
- [42] Silva, R., Folgosa, F., Soares, P., Pereira, A. S., Garcia, R., Gestal-Otero, J. J., Tavares, P., Gomes Da Silva, M. D. R., *Radiat. Environ. Biophys.*, **2013**, 52, 211–220. DOI: 10.1007/s00411-013-0460-2
- [43] Korhoňová, M., Hron, K., Klimčíková, D., Müller, L., Bednář, P., Barták, P., , *Talanta*, **2009**, 80, 710–715. DOI: 10.1016/j.talanta.2009.07.054

[44] Van Den Dool, H., Kratz, P. Dec., *J. Chromatogr. A*, **1963**, 11, 463–471. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)80947-X

[45] (<http://www.thegoodscentcompany.com>, última consulta no dia 02 de julho de 2017)

6 Anexos

6.1 Anexo A

Tabela 6.1 - Identificação dos picos após a análise por HS-SPME GC-MS, com índices calculados e da literatura, informação do grupo funcional (*índice de coluna FFAP).

Composto	Kovats	Kovats lit	Match	R. Match	Grupo	Nome	Dec-A-16	Dec-B-16	Tra-A-16	Fir-A-16	Cre-A-16	Cre-B-16	Cre-C-16	Ric1-A-16	Lun-A-16	Lun-B-16	Lun-C-16	Lun-D-16	Ric8-A-16	Ris-A-16	Ris-B-16	Ris-C-16	Ris-D-15	Ris-E-15	Ric3-A-16	Ric3-B-16	Esp-A-16	Sid-A-15	Sid-B-16	Bel-A-15	Bel-B-16	Cos-A	Cos-B	Cub-A	Col-A	Bra-A	Mex-A	Ind-A					
1		677	898	904	Amina	Trimethylamine	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
2					Desconhecido	desconhecido			x	x	x	x	x	x	x			x	x	x						x	x							x	x	x	x	x	x	x	x		
3			717	885	Amina	N-ethyl-Ethanamine		x		x			x	x				x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				x	x				x		
4			712	903	Alceno	1,4-Pentadiene	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
5		635	660	901	Tiol	Methanethiol	x	x	x		x		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
6		500	943	959	Aldeído	Acetaldehyde	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
7					Alcano	HC ramificado		x		x	x	x								x	x	x																					
8		660	864	898	Sulfurado	Carbon disulfite	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
9			799	835	Alcano	2,3-dimethyl-Hexane	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
10		682	860	957	Ácido carboxílico	Methyl formate	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
11	807	797	811	829	Alcano	2,4-dimethyl-heptane	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
12	813		892	897	Derivado Furano	Furan	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
13	817	801	784	844	Aldeído	propanal		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
14	828	817	839	886	Aldeído	2-methyl-propanal	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
15	831	814	966	969	Cetona	Acetone	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

45 Doce
46 Frutado
47 Manteiga
50 Café
52 Sulfuroso
54 Floral
55 Sulfuroso
56 Verde
57 Verde
58 Herbal
59 Caramelo
60 Frutado
63 Madeira
65 Picante
67 Queijo
68 Peixe
70 Cítrico
73 Nozes
74 Verde
76 Frutado
78 Café
79 Frutado
81 Herbal

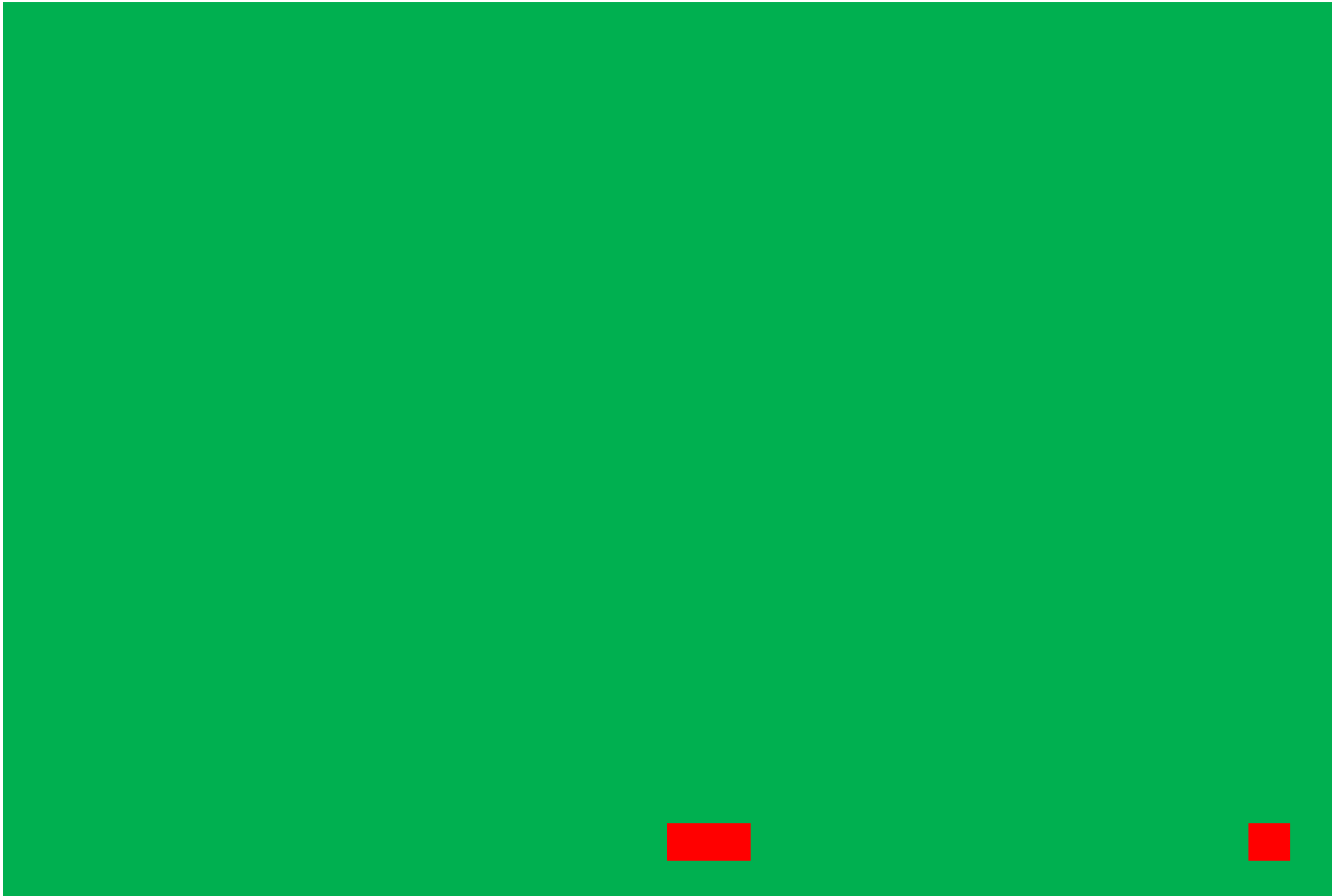


83 Frutado
86 Peixe
88 Balsâmico
89 Nozes
91 Nozes
93 Medicinal
95 Cítrico
96 Verde
97 Frutado
98 Caramelo
100 Nozes
101 Chocolate
102 Nozes
105 Nozes
107 Trufa
112 Verde
113 Café
115 Batata
116 Tabaco
117 Café
118 Nozes
119 Nozes
121 Verde
123 Nozes





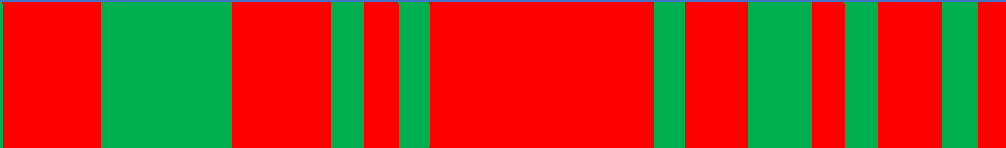


161 Tostado
164 Pão
168 Creme
169 Terra
171 Suor
176 Nozes
177 Sulfuroso
183 Madeira
186 Caramelo
190 Doce
191 Verde
192 Menta
193 Fenólico
197 Caramelo
198 Vegetal
204 Fenólico
209 Caramelo
210 Café
211 Doce
214 Mofado
215 Caramelo
216 Fenólico
217 Caramelo
219 Picante




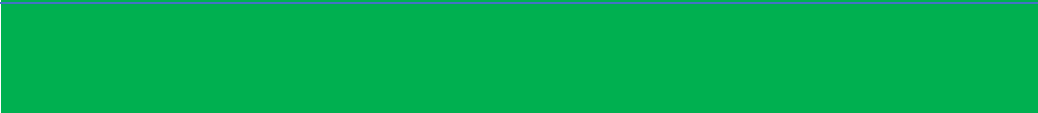








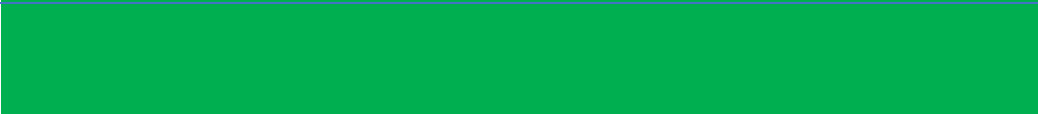
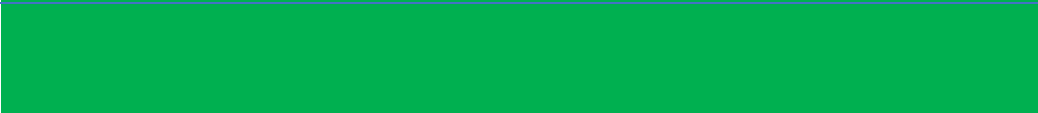



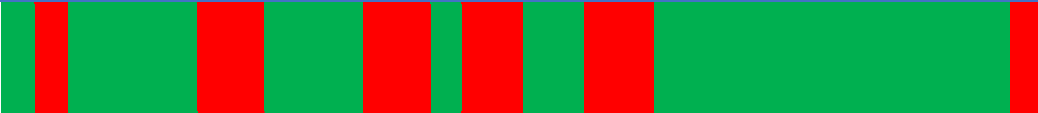
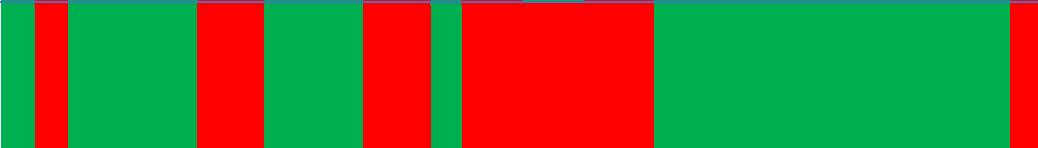
220 Mofado

222 Madeira



Ét 23 er	
Ch oc ol at e 26 e	
Ch oc ol at e 27 e	
Fr ut ad 28 o	
Ca rn 32 e	
Câ nf or 38 a	
Pi nh eir 42 o	
Su lfu ro 44 so	
Do 45 ce	
Fr ut ad 46 o	
M an tei 47 ga	
Ca 50 fé	
Su lfu ro 52 so	
54 Fl	

or al	
Su lfu ro 55 so	
Ve rd 56 e	
Ve rd 57 e	
He rb 58 al	
Ca ra m el 59 o	
Fr ut ad 60 o	
M ad eir 63 a	
Pi ca nt 65 e	
Q ue 67 ijo	
Pe ix 68 e	
Cít ric 70 o	
N oz 73 es	
Ve rd 74 e	
76 Fr	

ut ad o	
Ca 78 fé	
Fr ut ad 79 o	
He rb 81 al	
Fr ut ad 83 o	
Pe ix 86 e	
Ba lsâ mi 88 co	
N oz 89 es	
N oz 91 es	
M ed ici na 93 l	
Cít ric 95 o	
Ve rd 96 e	
Fr ut ad 97 o	
Ca ra m 98 el	

o	
N 10 oz 0 es	
Ch oc ol 10 at 1 e	
N 10 oz 2 es	
N 10 oz 5 es	
Tr 10 uf 7 a	
Ve 11 rd 2 e	
11 Ca 3 fé	
Ba 11 tat 5 a	
Ta 11 ba 6 co	
11 Ca 7 fé	
N 11 oz 8 es	
N 11 oz 9 es	
Ve 12 rd 1 e	
N 12 oz 3 es	
Te 12 rr 4 a	
12 N 5 oz	

es	
Ve 12 rd 6 e	
N 12 oz 7 es	
N 12 oz 8 es	
N 12 oz 9 es	
Ác 13 id 0 o	
Q ue im 13 ad 1 o	
13 Pã 2 o	
13 Ét 3 er	
all iac 13 eo 4 us	
13 Ca 5 fé	
Ba lsâ 13 mi 7 co	
Fr ut 13 ad 9 o	
Fr ut 14 ad 2 o	
Su lfu 14 ro 3 so	
14 Ca	

8 ra m el o	
Ca ra m 15 el 1 o	
Fr ut 15 ad 4 o	
To st 15 ad 6 o	
Q ue im 15 ad 8 o	
N 15 oz 9 es	
N 16 oz 0 es	
To st 16 ad 1 o	
16 Pă 4 o	
Cr e 16 m 8 e	
Te 16 rr 9 a	
17 Su 1 or	
N 17 oz 6 es	
17 Su 7 lfu	

ro so	
M ad 18 eir 3 a	
Ca ra m 18 el 6 o	
19 Do 0 ce	
Ve 19 rd 1 e	
M 19 en 2 ta	
Fe nó 19 lic 3 o	
Ca ra m 19 el 7 o	
Ve 19 ge 8 tal	
Fe nó 20 lic 4 o	
Ca ra m 20 el 9 o	
21 Ca 0 fé	
21 Do 1 ce	
M of 21 ad 4 o	

Ca ra m 21 el 5 o	
Fe nó 21 lic 6 o	
Ca ra m 21 el 7 o	
Pi ca 21 nt 9 e	
M of 22 ad 0 o	
M ad 22 eir 2 a	

6.2 Anexo B

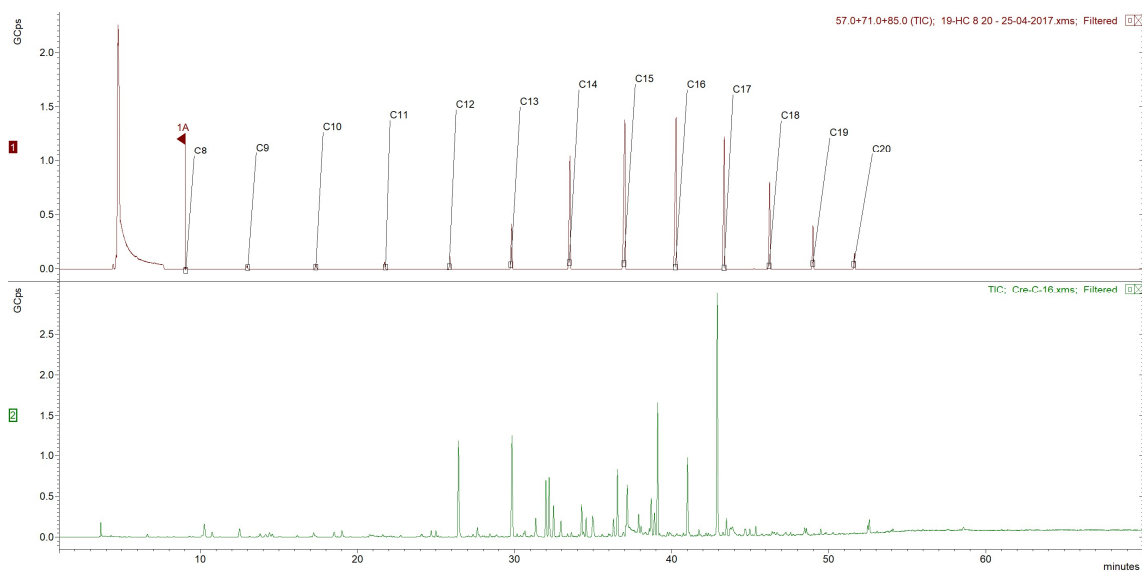


Figura 6.1 - Comparação do TIC de iões (EIC) 57+71+85 da amostra de hidrocarbonetos C₈ a C₂₀ identificados com TIC da amostra Cre-C-16.

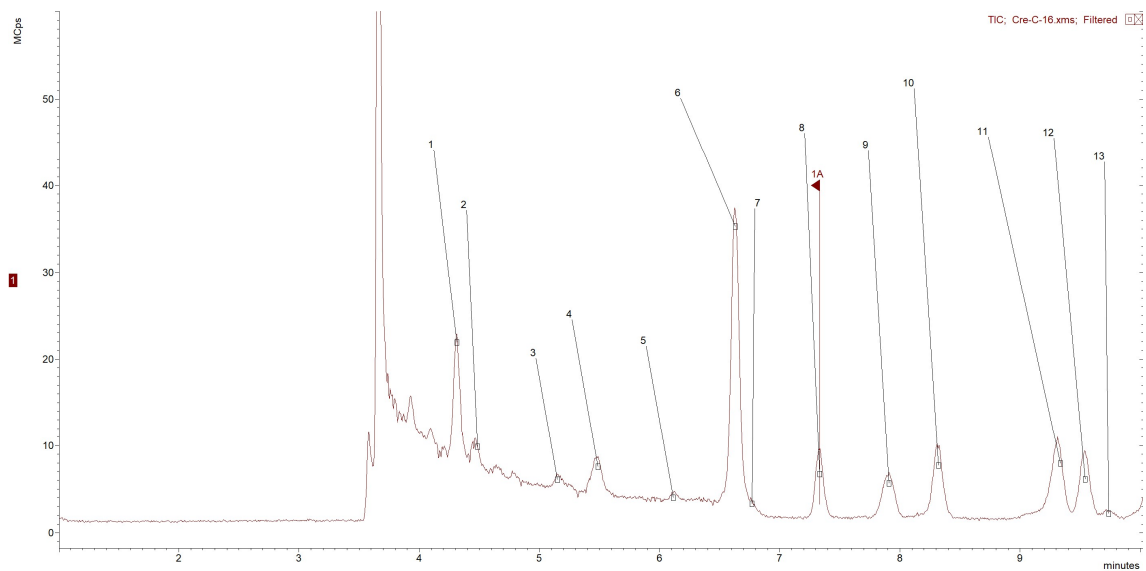


Figura 6.2 - Cromatograma reconstruído, intervalo 1 a 10 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

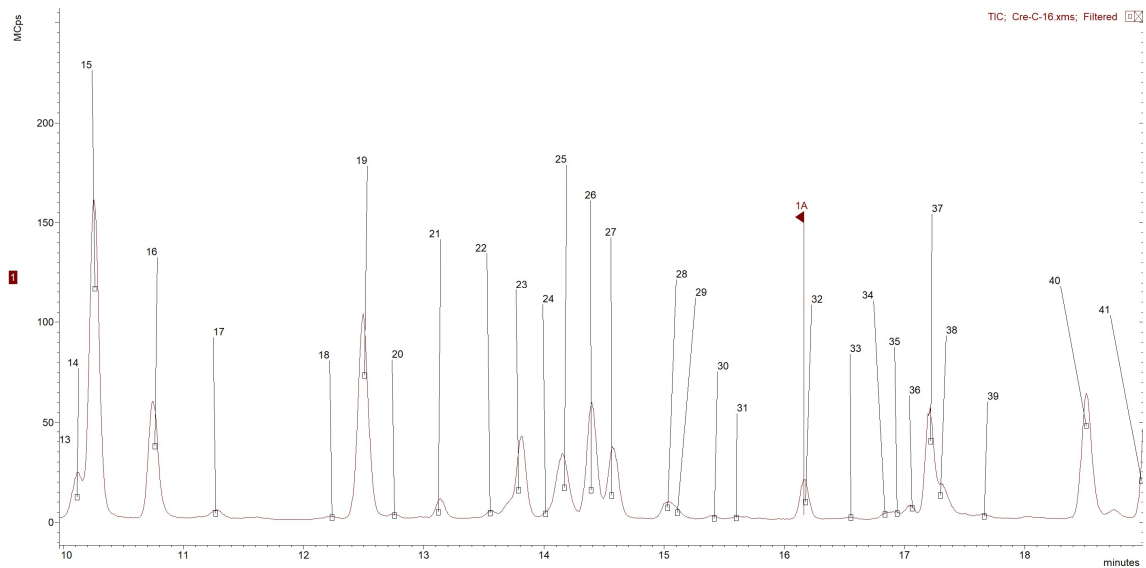


Figura 6.3 - Cromatograma reconstruído, intervalo 10 a 19 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

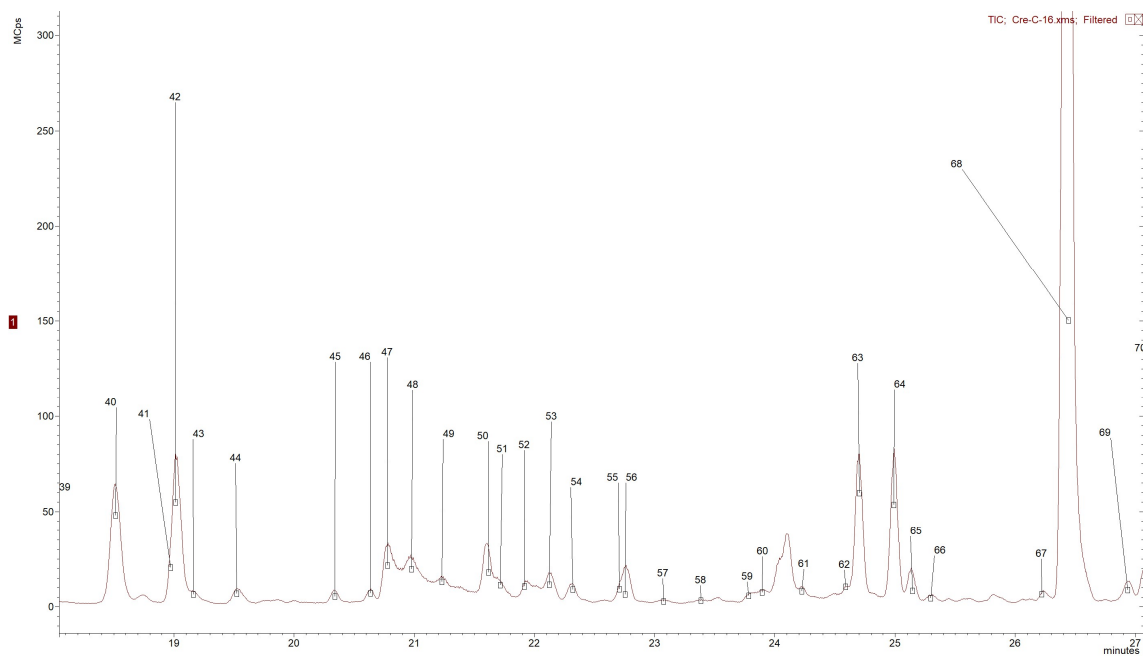


Figura 6.4 - Cromatograma reconstruído, intervalo 18 a 27 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

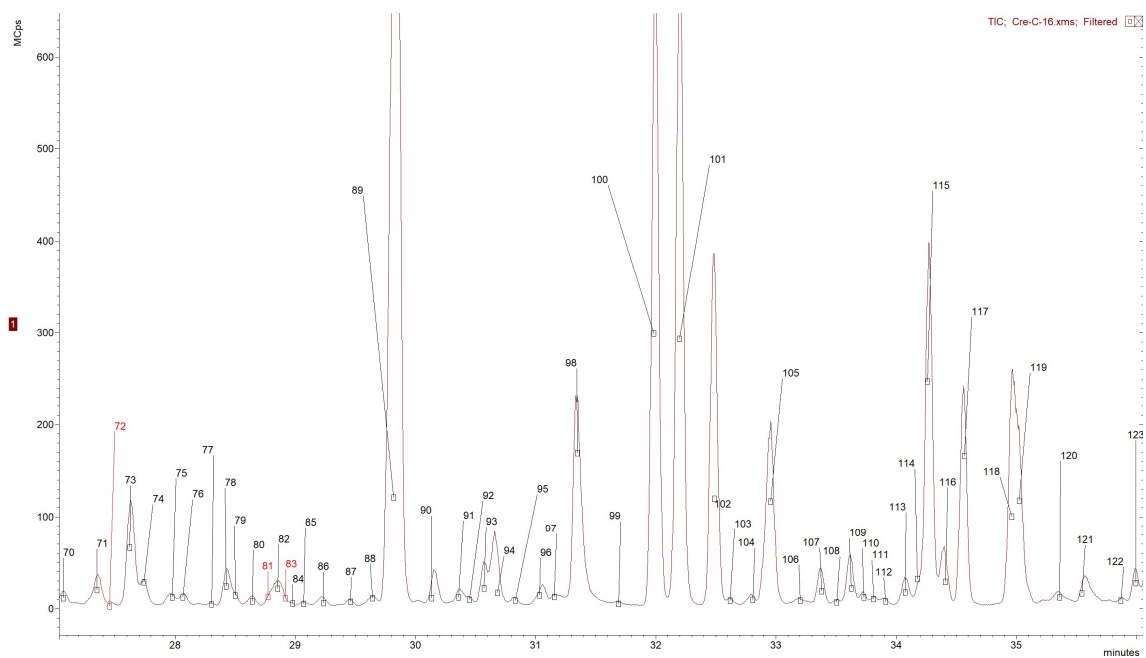


Figura 6.5 - Cromatograma reconstruído, intervalo 27 a 36 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

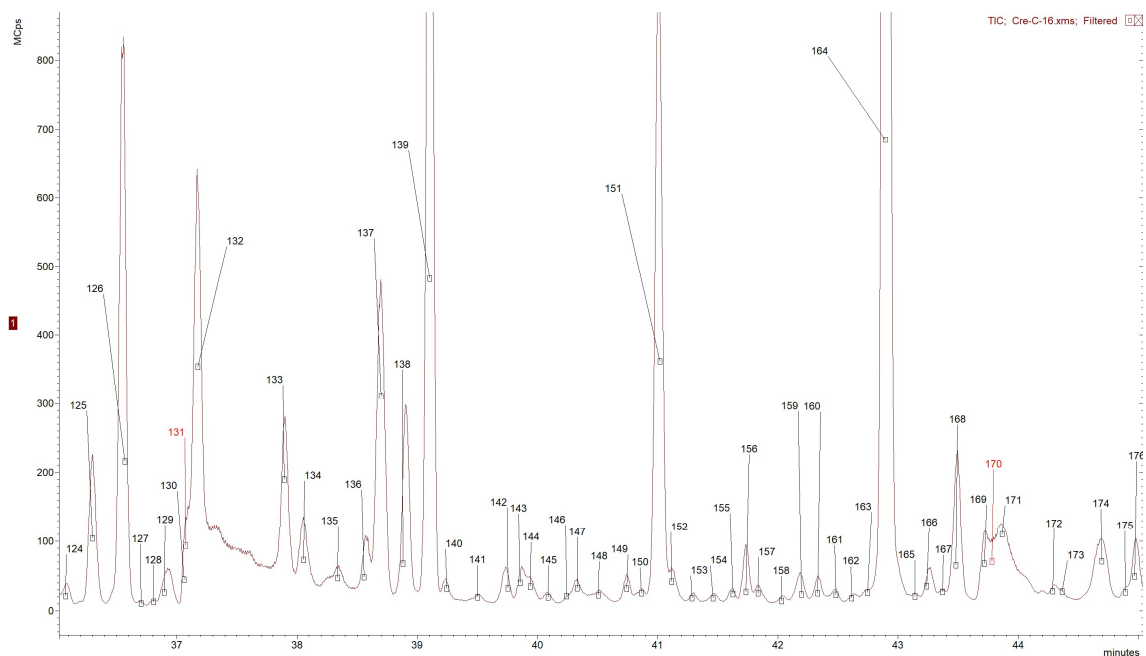


Figura 6.6 - Cromatograma reconstruído, intervalo 36 a 45 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

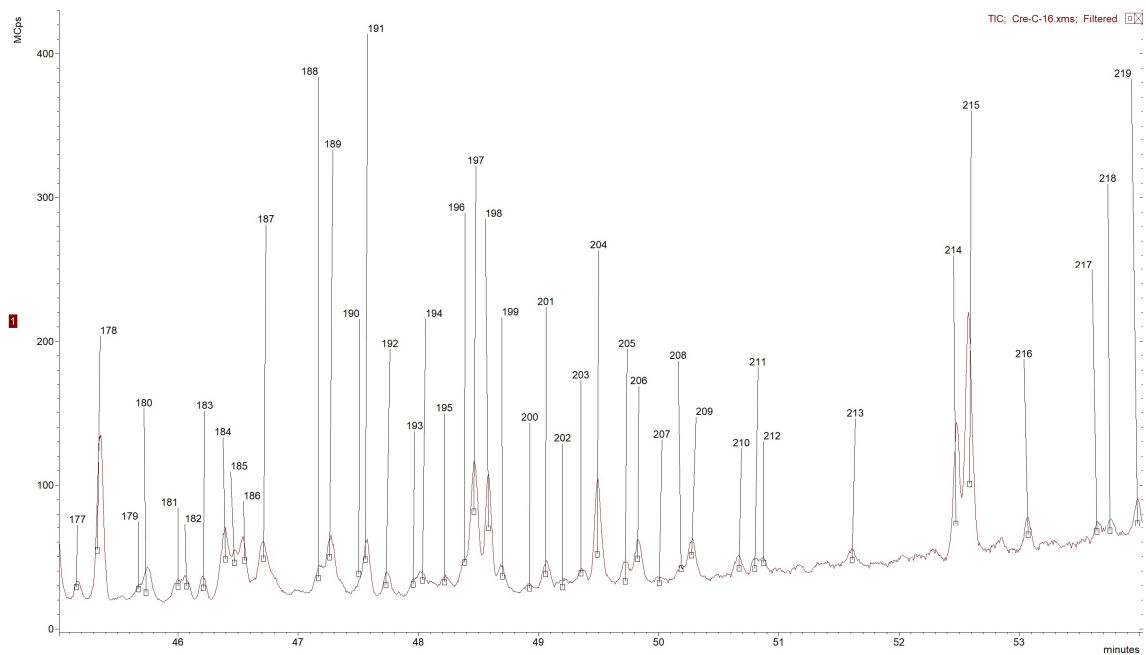


Figura 6.7 - Cromatograma reconstruído, intervalo 44 a 54 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

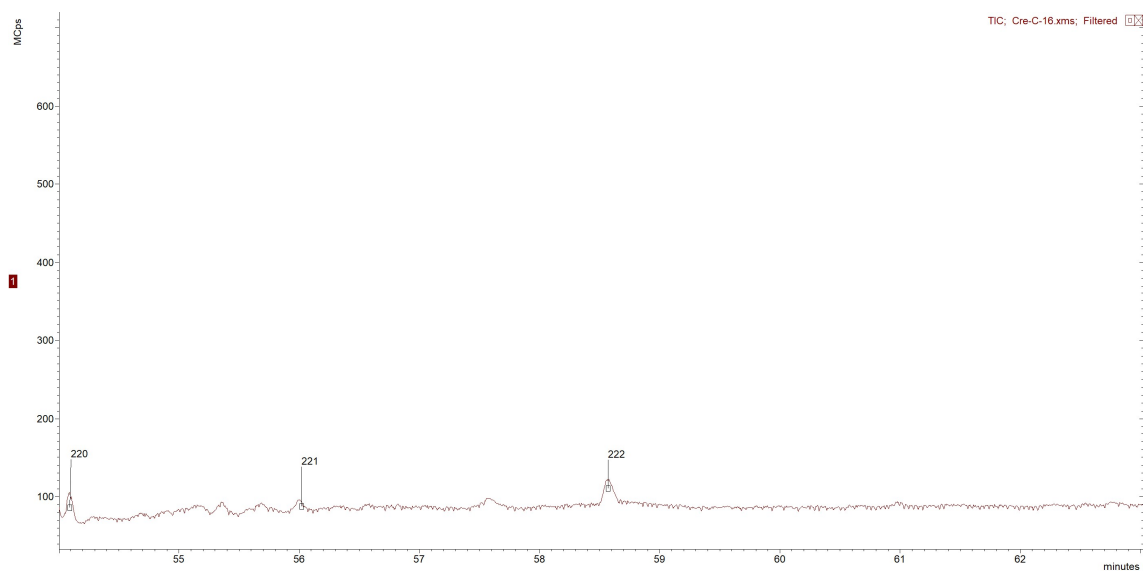


Figura 6.8 - Cromatograma reconstruído, intervalo 54 a 63 min, do headspace do blend Cre-C-16. Os picos estão numerados e atribuídos conforme a tabela 3.1. Condições de operação podem ser consultadas no capítulo 2.

6.3 Anexo C

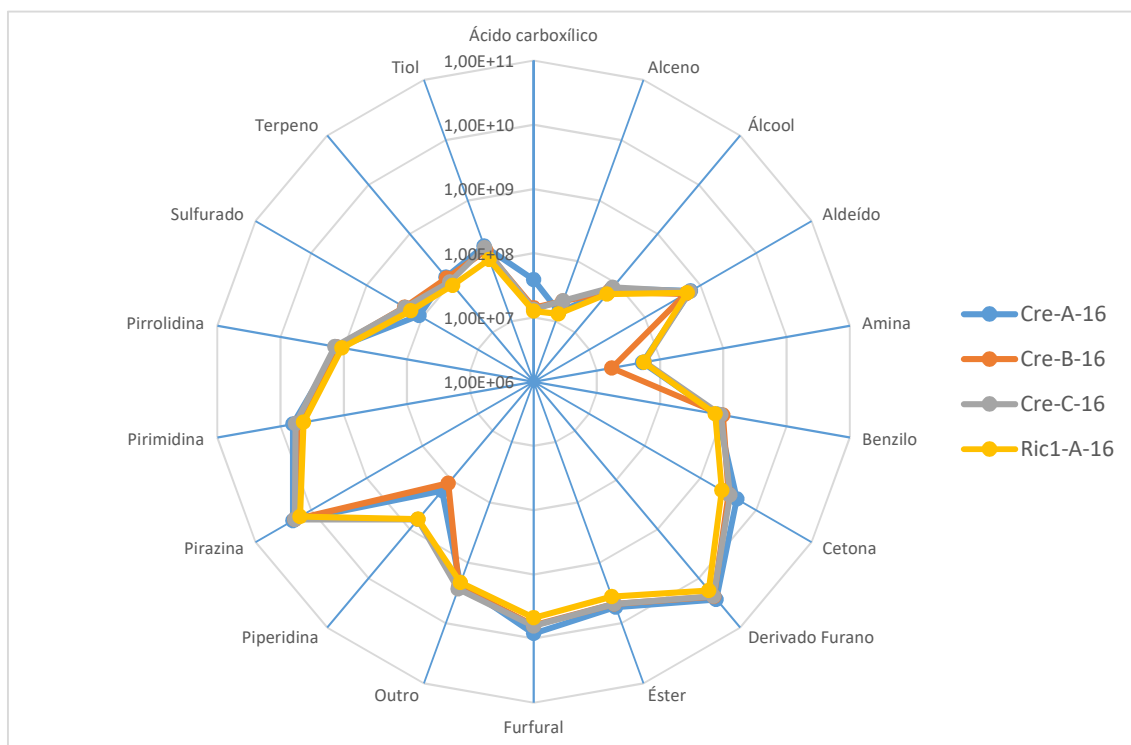


Figura 6.9 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends cremoso.

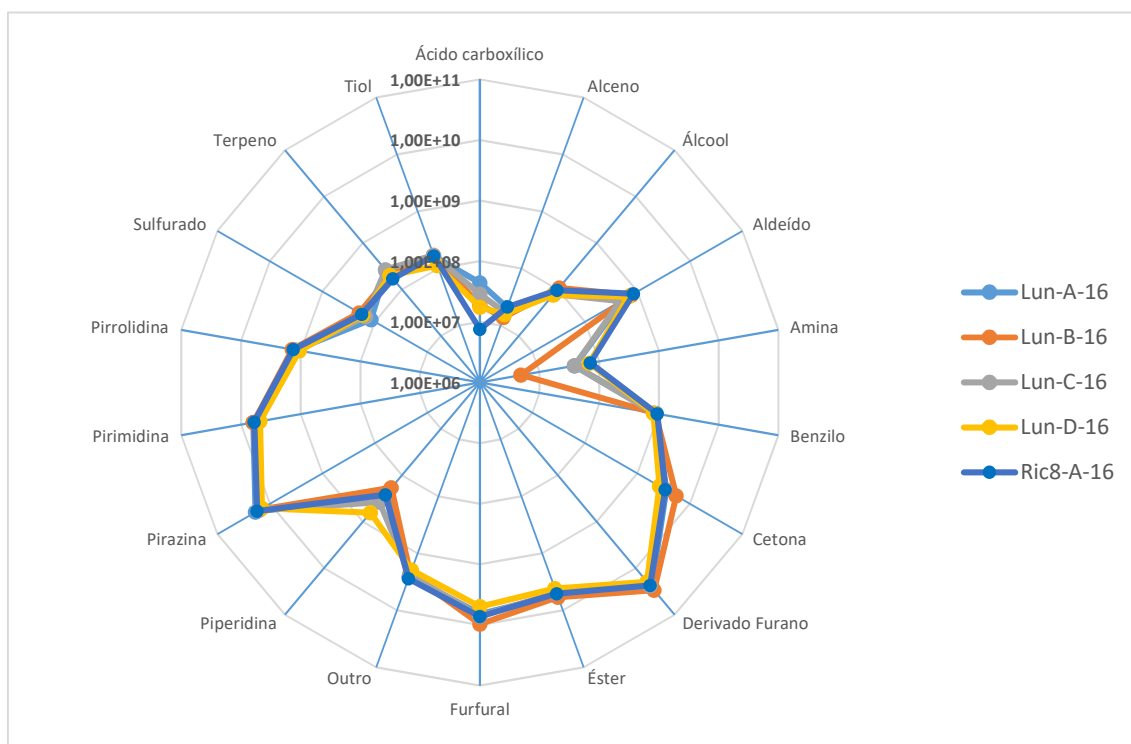


Figura 6.10 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends lungo.

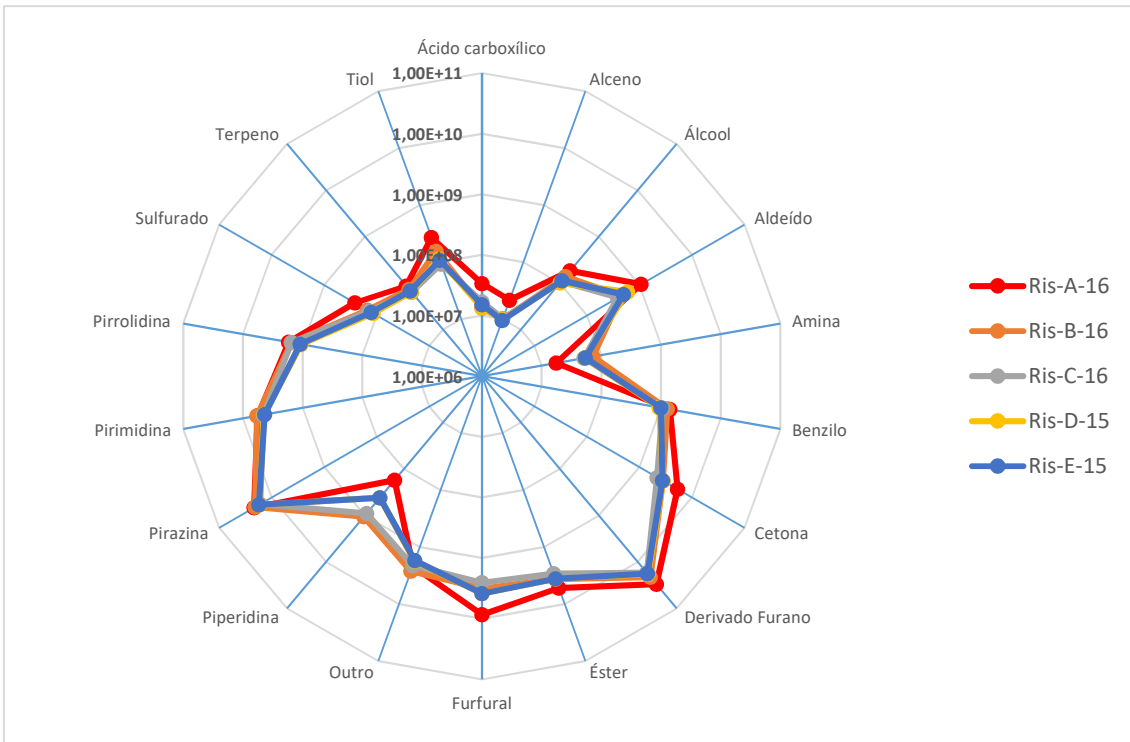


Figura 6.11 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends ristretto.

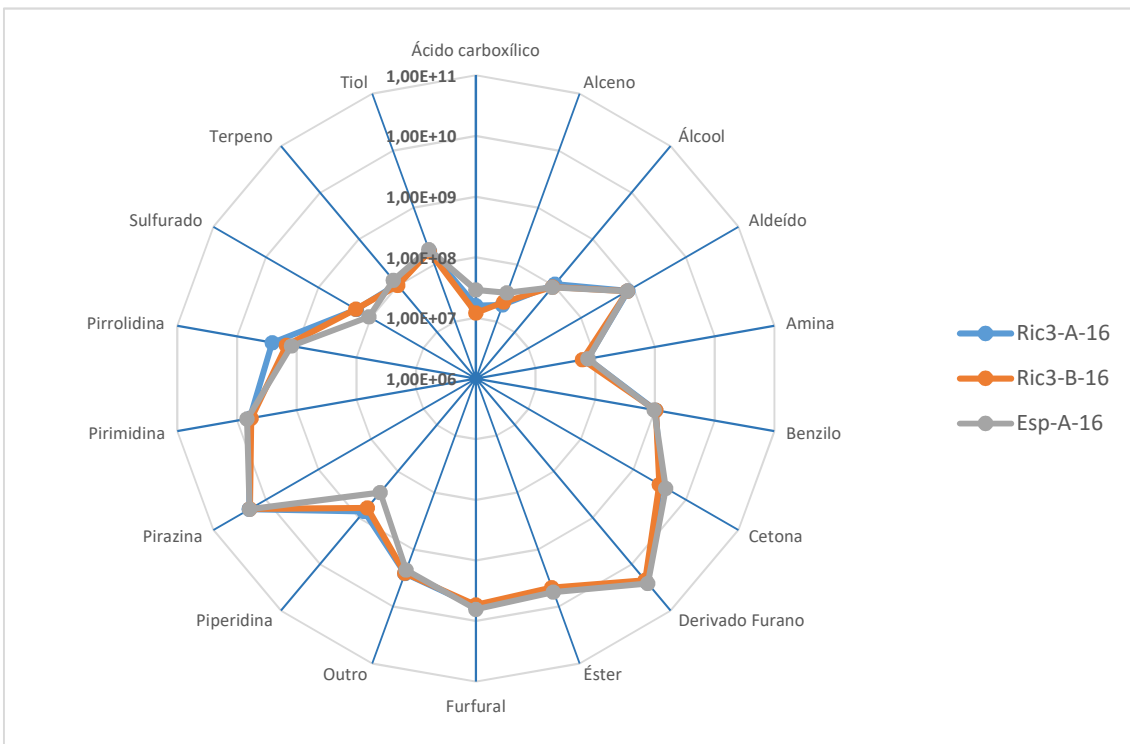


Figura 6.12 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends espresso.

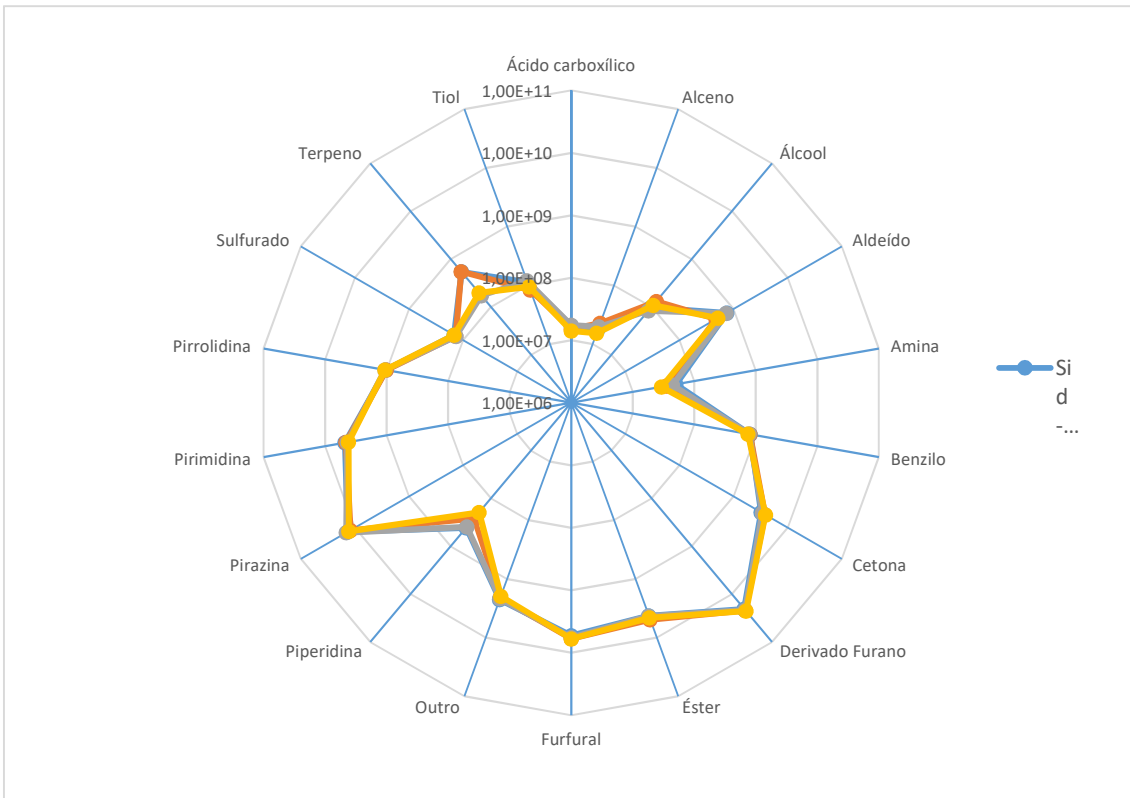


Figura 6.13 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends premium.

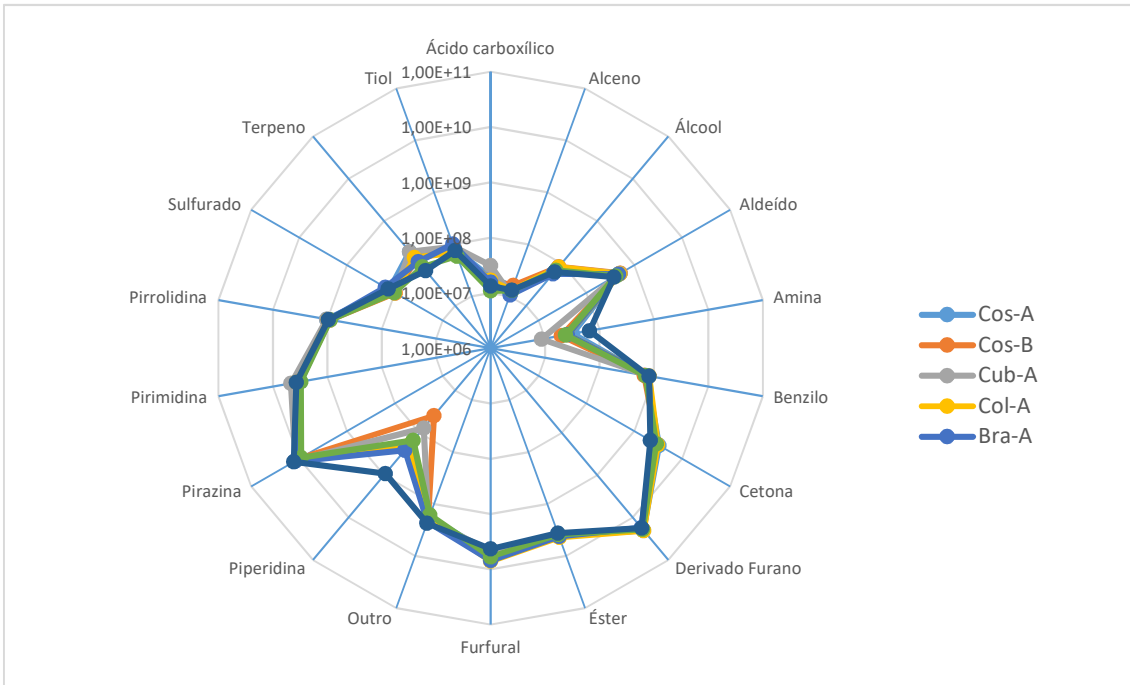


Figura 6.14 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends origem geográfica única.

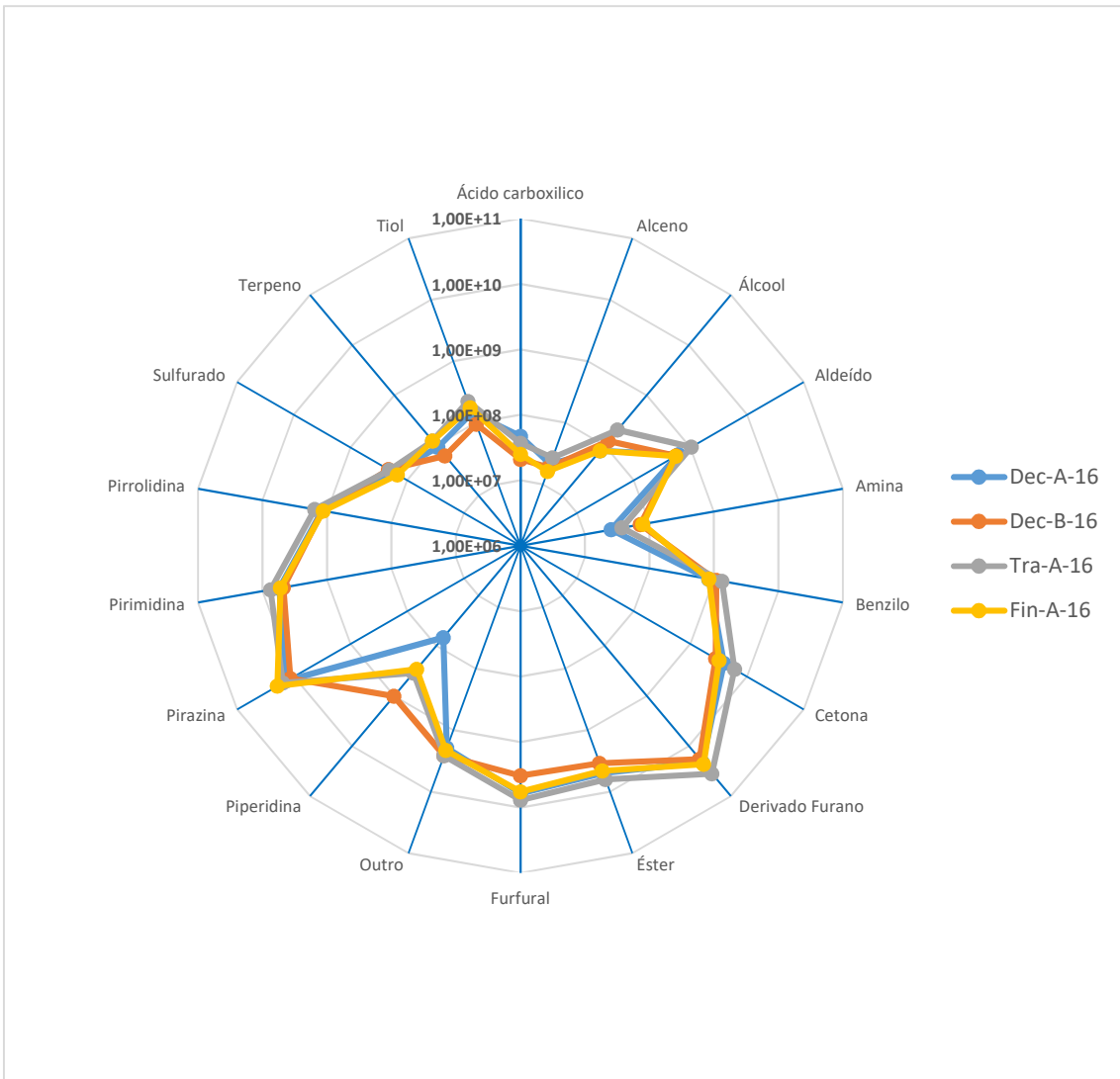


Figura 6.15 - Gráfico de comparação de intensidades totais de famílias de grupos funcionais dos blends vários.