



**Adilson Valério de Jesus Mangueze**

Licenciado em Engenharia Agronómica

**Influência da altitude e do  
sombreamento na qualidade física e  
química do café (*Coffea arabica* L.)**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Tecnologias de Produção e Transformação Agro-industrial

Orientador: Professor Doutor Fernando José Cebola  
Lidon, Professor catedrático, Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Doutor António Eduardo Baptista Leitão,  
Investigador auxiliar, Instituto Superior de Agronomia da  
Universidade de Lisboa

Júri

Presidente: Prof. Doutor Fernando Henrique da Silva Reboredo - FCT/UNL

Arguente: Prof<sup>a</sup>. Doutora Ana Isabel Faria Ribeiro - ISA/UL

Vogal: Prof. Doutor Fernando José Cebola Lidon - FCT/UNL



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Abril 2019**





**Adilson Valério de Jesus Mangueze**

Licenciado em Engenharia Agronómica

**Influência da altitude e do  
sombreamento na qualidade física e  
química do café (*Coffea arabica* L.)**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Tecnologias de Produção e Transformação Agro-industrial

Orientador: Prof.Doutor Fernando José Cebola Lidon,  
Professor Catedrático, Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Doutor António Eduardo Baptista Leitão,  
Investigador auxiliar, Instituto Superior de Agronomia da  
Universidade de Lisboa

Júri

Presidente: Prof. Doutor Fernando Henrique da Silva Reboredo - FCT/UNL  
Arguente: Prof<sup>a</sup>. Doutora Ana Isabel Faria Ribeiro - ISA/UL  
Vogal: Prof. Doutor Fernando José Cebola Lidon - FCT/UNL



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Abril 2019**

“Influência da altitude e do sombreamento na qualidade física e química do café (*Coffea arábica* L.)”  
Copyright ©, Adilson Valério de Jesus Manguze, FCT/UNL e UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm 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 objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## Dedicatória

Aos meus pais Valério de Jesus Agostinho Manguze e Argentina Ernesto Pequenino Covela.

Aos meus irmãos Célio Manguze, Valério Manguze e Nelton Manguze.

À minha namorada Carina Tanques.

À minha avó Marcela Nhatsadiane (*in memoriam*)

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Ribeiro-Barros.

***Dedico***

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar o meu apreço e agradecimento especial vão à Cooperação Portuguesa (Camões, Instituto da Cooperação e da Língua IP e Fundação para a Ciência e Tecnologia através da quota para o IRRI/CGIAR) pelo financiamento dos projetos *Produção Sustentável de Café no Parque Nacional da Gorongosa em Sistema Agro-florestal Integrado no Contexto da Desflorestação, Alterações Climáticas e Segurança Alimentar e Investigação Agrária para o Desenvolvimento nos PALOP* respectivamente, em especial a Prof<sup>a</sup>. Doutora Ana Isabel Ribeiro-Barros enquanto coordenadora dos projetos pelo financiamento do curso de Mestrado através das bolsas de investigação.

À Fundação Calouste Gulbenkian pelo financiamento do segundo ano do curso de Mestrado.

Ao Parque Nacional da Gorongosa (PNG), pelo financiamento da viagem e da estadia para a colheita das amostras de café na Serra da Gorongosa em Sofala, Moçambique.

À toda minha família em especial ao meu pai Valério Manguze e Argentina Pequenino e aos meus irmãos, Célio, Valério Jr. e Nelton.

À minha namorada e melhor amiga Carina Jeny por estar sempre por perto mesmo com a distância que nos dividia nos momentos de alegria e tristeza, pelo apoio incondicional, carinho, amor, o meu muito obrigado.

Aos meus orientadores, o Professor Doutor Fernando José Cebola Lidon e Doutor António Eduardo Baptista Leitão pelo apoio incondicional, pelas críticas, opiniões e contribuições bastante importantes para realização desta dissertação. Um especial agradecimento vai para o Doutor José Cochicho Ramalho Cochicho e ao Eng<sup>o</sup>. Viriato Cossa que se mostraram incansavelmente disponíveis durante todo o curso de mestrado. O meu muito obrigado.

Um especial agradecimento vai também para os trabalhadores do PNG, do Laboratório de Tecnologias Agroindústrias da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa em especial a Prof<sup>a</sup> Fernanda Pessoa e do Laboratório do Departamento de Recursos Naturais, Ambiente e Território do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa pelo suporte técnico.

Agradecer também aos meus amigos e colegas em especial, o Ambrósio, a Dalila, o Lenino, o Panda, a Luiza, a dr<sup>a</sup>. Isabel Pais (em especial pelo grande apoio durante as análises no laboratório do INIAV), o Jambo, Saraiva, Roberto, Alex, Jambo, Ice, John e Celso pelo companheirismo e pelo apoio moral.

Agradecer a todos que não pude aqui citar, mas que direta ou indiretamente contribuíram para a materialização deste trabalho.

E por fim agradecer a DEUS pelo dom da vida e pela proteção que sempre tem providenciado a mim e a todos que me querem ver bem.

À estas todas pessoas e organismos vai o meu eterno e profundo agradecimento.

## Resumo

As taxas de desflorestação nas regiões tropicais são algumas das mais altas a nível mundial, principalmente em países pobres como Moçambique. Esta situação tem acarretado elevados impactos negativos ao ambiente desde a redução da biodiversidade, a baixa resiliência climática, bem como a redução da subsistência das populações locais. Foi nesta perspectiva que se têm implementado os sistemas agroflorestais na Serra da Gorongosa, uma zona onde anualmente têm sido perdidas enormes áreas de floresta nativa. Esta abordagem tem o intuito de reconciliar a conservação do ambiente com o desenvolvimento local através da consorciação de árvores nativas com plantas de café, que é o dos produtos agrícolas mais comercializados a nível global, para obtenção de renda para as famílias locais travando-se assim a desflorestação. Assim, com este estudo pretende-se avaliar o impacto do sombreamento e dos diferentes níveis da altitude na qualidade do café. Neste enquadramento, procedeu-se à recolha em quatro plantas por tratamento, de amostras de frutos de café maduros de *Coffea arabica* cv. Costa Rica, cultivados em três níveis de altitude (650, 825 e 935 m) e três níveis de sombreamento (0, 50 e 100%), na Serra da Gorongosa em Moçambique. Efectuaram-se análises físicas e químicas em grãos verdes de café que influenciam na qualidade, dentre elas, o peso de 100 grãos e tamanho dos grãos, densidade aparente, cor, cafeína, trigonelina, ácidos clorogénicos, ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico, pH, fenóis totais, acidez titulável, sólidos solúveis e micro e macronutrientes minerais. A maioria destes parâmetros foram afectados, principalmente pela altitude e apenas alguns foram afectados pelo sombreamento isoladamente (tendo-se verificado poucas interações entre ambos). O peso de 100 grãos, a densidade, a cafeína e os fenóis totais aumentaram com a altitude, e a cor mostrou uma melhoria na qualidade dos grãos com o aumento da altitude. Todavia, a trigonelina, os ácidos cafeicos, *p*-cumárico e ferúlico, bem como os teores dos ácidos solúveis foram influenciados por ambos os factores, aumentando os seus teores apenas com o sombreamento na altitude de 935 m. Os ácidos clorogénicos não foram afectados por nenhum dos factores e o teor dos elementos minerais diminuiu com o aumento da altitude, não tendo sido influenciados pelo sombreamento. Em geral o aumento da altitude amentou a qualidade do café e o sombreamento melhorou de forma marginal a qualidade, sendo que na maior parte dos parâmetros este factor não se visualizou. Assim, a produção de café em sistemas agroflorestais pode ser uma alternativa viável para mitigar a desflorestação.

**Palavras-chave:** altitude, *Coffea arabica*, desflorestação, qualidade dos grãos de café, sombreamento

## Abstract

Deforestation rates in tropical regions are some of the highest in the world, especially in poor countries as Mozambique. This situation has had high negative impacts on the environment as the reduction of biodiversity, the low climate resilience as well as the reduction of the subsistence of the local populations. It was in this perspective that agroforestry systems have been implemented in Serra of Gorongosa, an area where huge areas of native forest have been lost annually. This approach aims to reconcile conservation of the environment with local development through the consociation of native trees with coffee plants, which is one of the most globally traded agricultural product to obtain income for local families halting deforestation. Thus, this research aims to evaluate the impact of shading and different altitude levels on coffee quality. Samples of mature coffee fruits of *Coffea arabica* cv. Costa Rica, cultivated at three altitude levels (650, 825 and 935 m) and three shading levels (0, 50 and 100%) were harvested in the Serra of Gorongosa in Mozambique, and some physical and chemical analyzes were carried out on green coffee beans. Among them, the weight of 100 grains and grain size, apparent density, color, caffeine, trigonelline, chlorogenic acids, caffeic, *p*-coumaric and ferulic acid, pH, total phenols, titratable acidity, soluble solids and micro and mineral macronutrients were characterized. Most of these parameters were mainly affected by altitude and only a few were affected by shading alone (with little interaction between both factors). The weight of 100 grains, density, caffeine and total phenols increased with altitude, and color showed an improvement in grain quality with increasing altitude. However, trigonellina, caffeic, *p*-coumaric and ferulic acids, as well as soluble acid contents were influenced by both factors, increasing their levels only with shading at altitude of 935 m. However, chlorogenic acids were not affected by any of the factors and the minerals decreased their content with increasing altitude and were not influenced by shading. In general, the increase in altitude increased coffee quality and shading improved quality marginally, and in most of the parameters this factor had no effect. Thus, coffee production in agroforestry systems may be a viable alternative to mitigate deforestation.

**Keywords:** altitude, *Coffea arabica*, coffee bean quality, deforestation, shading

## Índice de matérias

Dedicatória .....	II
Agradecimentos .....	III
Resumo .....	IV
Abstract .....	V
Índice de figuras .....	VIII
Índice de tabelas .....	IX
Lista de abreviaturas, símbolos, siglas, acrónimos .....	X
<b>I. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 Enquadramento .....	1
1.2 Justificativa .....	2
1.3 Objetivos .....	4
1.3.1 Objetivo geral .....	4
1.3.2 Objetivos específicos .....	4
<b>II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Particularidades do café .....	5
2.1.1 Origem e botânica .....	5
2.1.2 Importância e produção .....	6
2.1.3 Estrutura do grão e valor nutricional .....	7
2.2 Tecnologias de processamento de café .....	9
2.2.1 Processamento por via seca .....	11
2.2.2 Processamento por via semi-seca .....	11
2.2.3 Processamento por via húmida .....	11
2.2.4 Torra do café .....	12
2.3 Composição química do café .....	13
2.3.1 Cafeína .....	14
2.3.2 Trigonelina .....	14
2.3.3 Ácidos clorogénicos .....	15
2.4 Impacto do café na saúde .....	16
2.4.1 Efeito do café no <i>Diabetes mellitus</i> tipo II .....	16
2.4.2 Efeito do café na pressão arterial .....	17
2.4.3 Efeito do café no potencial antioxidante .....	17
2.5 Produção de café em sistemas agroflorestais .....	18
2.6 Efeito da altitude na qualidade do café .....	19
<b>III. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 Tratamentos e coleta de amostras .....	21
3.2 Preparação das amostras .....	22
3.2.1 Processamento do café verde .....	22
3.2.2 Remoção do pergaminho e trituração dos grãos .....	22
3.3 Análises físicas dos grãos de café .....	23
3.3.1 Determinação da massa de 100 grãos e da densidade aparente .....	23
3.3.2 Análise granulométrica – Crivagem manual .....	24

3.3.3. Avaliação da cor.....	25
3.4 Análises químicas dos grãos de café .....	26
3.4.1 Determinação da cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos e ácidos cafeico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico .....	26
3.4.2 pH.....	28
3.4.3 Acidez titulável .....	28
3.4.4 Fenóis totais.....	29
3.4.5 Sólidos solúveis.....	30
3.4.6 Minerais .....	31
3.5 Análise de dados .....	32
3.5.1 Estatística descritiva.....	32
3.5.2 Estatística inferencial.....	32
<b>IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
4.1 Análises físicas no café verde.....	33
4.1.1 Massa de 100 grãos e densidade aparente .....	33
4.1.2 Análise granulométrica – Crivagem manual .....	37
4.1.3 Avaliação da cor.....	40
4.2 Análises químicas no café verde.....	43
4.2.1 Cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos e ácidos cafeico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico.....	43
4.2.2 pH, acidez titulável, fenóis totais e teor de sólidos solúveis.....	48
4.2.3 Minerais .....	52
<b>V. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>58</b>
5.1 Conclusões.....	58
5.2 Recomendações e perspectivas futuras.....	60
<b>VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>61</b>
<b>VII. ANEXOS .....</b>	<b>73</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 2.1:</b> Distribuição da produção de café arábica e robusta a nível global.....	6
<b>Figura 2.2:</b> Produção, consumo e exportação mundial de café entre 2006 e 2015.....	7
<b>Figura 2.3:</b> Representação esquemática das camadas do fruto de café.....	8
<b>Figura 2.4:</b> Representação esquemática de métodos de processamento pós-colheita e as principais alterações bioquímicas que ocorrem no café.....	10
<b>Figura 2.5:</b> Representação química da cafeína (A), da trigonelina (B) e do ácido clorogênico (C). ....	14
<b>Figura 3.1:</b> Colheita de amostras nas parcelas (A) e café colhido na maturação ideal (B). ....	21
<b>Figura 3.2:</b> Diferentes níveis de sombreamento no café da Serra da Gorongosa. ....	21
<b>Figura 3.3:</b> Etapas do processamento por via húmida do café: despolpa mecânica (A), fermentação (B), lavagem (C) e secagem do café (D).....	22
<b>Figura 3.4:</b> Grão de café verde sem pergaminho (a), o triturador metálico (b), café verde triturado com granulometria menor que 0.5 mm (c).....	23
<b>Figura 3.5:</b> Ensaio de determinação da massa de 100 grãos e da densidade aparente.....	24
<b>Figura 3.6:</b> Crivagem manual e processo de pesagem na balança analítica.....	25
<b>Figura 3.7:</b> Determinação da cor no café verde triturado usando um colorímetro Minolta Chroma Meter CR-400. ....	26
<b>Figura 3.8:</b> Algumas etapas do procedimento de determinação da cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos e ácidos cafeico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico.....	28
<b>Figura 3.9:</b> Algumas etapas do procedimento de determinação da acidez titulável.....	29
<b>Figura 3.10:</b> Algumas etapas do procedimento de extração dos fenóis. ....	30
<b>Figura 3.11:</b> Procedimentos para a obtenção da curva de calibração e quantificação dos fenóis totais. ....	30
<b>Figura 3.12:</b> Etapas da determinação do teor de sólidos solúveis. ....	31
<b>Figura 3.13:</b> Analisador portátil de raio-X (a), imagem esquemática do funcionamento do equipamento (b).....	32
<b>Figura 4.1:</b> Composição granulométrica dos cafés submetidos aos diferentes tratamentos de altitude e sombreamento, expressa em percentagem fracionada da massa de café retida em cada crivo. ....	37
<b>Figura 4.2:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento na luminosidade ( $L^*$ ) dos grãos de café verde. ....	40
<b>Figura 4.3:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento do parâmetro $a^*$ da cor dos grãos de café verde. ....	40
<b>Figura 4.4:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento do parâmetro $b^*$ da cor nos grãos de café verde. ....	41
<b>Figura 4.5:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento na croma ( $C^*$ ) dos grãos de café verde.....	41
<b>Figura 4.6:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento no ângulo de tonalidade ( $H^*$ ) dos grãos café verde.....	41

## Índice de tabelas

<b>Tabela 2.1:</b> Composição química do café.....	13
<b>Tabela 4.1:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento na massa de 100 grãos e na densidade aparente dos grãos de café verde. ....	33
<b>Tabela 4.2:</b> Crivo mais frequente, crivo médio e homogeneidade comercial dos cafés submetidos a diferentes níveis de altitude e sombreamento.....	38
<b>Tabela 4.3:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos teores da cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos e ácidos cafeico, <i>p</i> -cumárico e ferúlico.....	44
<b>Tabela 4.4:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos parâmetros pH, acidez titulável, fenóis totais e no teor de sólidos solúveis nos grãos de café verde.....	49
<b>Tabela 4.5:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos teores dos macronutrientes minerais nos grãos de café verde.....	53
<b>Tabela 4.6:</b> Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos teores dos micronutrientes minerais nos grãos de café verde.....	55

## Lista de abreviaturas, símbolos, siglas, acrónimos

ACG	Ácidos clorogénicos
AGE	Ácido Gálico Equivalente
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CEAGRE	Centro de Estudos de Agricultura e Gestão de Recursos Naturais
CQA	Cafeoilquínicos
cv	Cultivar
DC	Depois de Cristo
DM II	<i>Diabetes mellitus</i> do tipo 2
EUA	Estados Unidos da América
g	grama
FCT	Faculdade de Ciências e Tecnologias
HPLC	High-Performance liquid chromatography
ICO	International Coffee Organization
ISO	Internacional Organization for Standardization
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
PA	Pressão arterial
PNG	Parque Nacional da Gorongosa
PS	Peso seco
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
UNL	Universidade Nova de Lisboa
USD	Dólares dos Estados Unidos
USDA	United States Department of Agriculture
WI	Winrock Internacional
WWF	World Wildlife Fund
°C	Grau centígrado ou Celsius
µg	micrograma
%	Porcentagem
>	Maior que

## I. INTRODUÇÃO

### 1.1 Enquadramento

A desflorestação nos trópicos continua sendo a maior ameaça à biodiversidade, ao clima e à subsistência das populações locais (Achard *et al.*, 2014; Twongyirwe *et al.*, 2018). As taxas de desflorestação nas zonas tropicais são das mais altas do mundo e foram responsáveis por mais de 23% da perda florestal global entre 1990 e 2009 (Houghton, 2012). Assim, o uso de sistemas agroflorestais nestas zonas, é visto como uma abordagem promissora para reconciliar a conservação da biodiversidade e o desenvolvimento local (Jezeer *et al.*, 2017).

O café é um dos produtos agrícolas mais comercializados a nível global, sendo que em 2012 o valor total do setor cafeeiro foi estimado em USD 173,4 bilhões (Lee *et al.*, 2015). No entanto, a composição bioquímica dos grãos de café verde é decisiva para a qualidade sensorial através de reações químicas induzidas durante a torra. Por exemplo, altos níveis de trigonelina e ácidos clorogénicos de café estão fortemente correlacionados com alta qualidade (Farah *et al.*, 2006). Por isso, são importantes vários estudos e a aplicação de métodos produtivos adequados para que a qualidade de café não seja colocada em causa, pois a composição bioquímica e os atributos de qualidade dos grãos de café podem variar com as características genéticas das cultivares, condições edafoclimáticas, práticas agrícolas e técnicas de colheita e processamento pós-colheita (Bertrand *et al.*, 2006; Leroy *et al.*, 2006; Vaast *et al.*, 2006).

Dentre várias condições de manejo agrícola, alguns estudos mostraram que a altitude e o sombreamento influenciam a qualidade do café (Vaast *et al.*, 2006; Worku *et al.*, 2018). Assim, considerando a importância destes factores na produção de café de alta qualidade, particularmente num contexto de mudanças climáticas, um melhor conhecimento sobre as interações da altitude e do sombreamento são cruciais para sustentar a produção de café de alta qualidade.

O café é umas das plantas que foi originalmente foi cultivada sob um denso dossel florestal em muitas zonas na África Oriental e exige algum grau de cobertura de sombra, principalmente quando é cultivado em baixas altitudes e em climas quentes (Steiman *et al.*, 2011; Worku *et al.*, 2018). Entretanto, o estabelecimento de sistemas de cultivo agroflorestais e as respetivas modalidades de manejo devem ser cuidadosamente estudados em termos do seu impacto para os ecossistemas (Meylan *et al.*, 2017).

Foi nesta perspetiva, que o Parque Nacional da Gorongosa (PNG) tem vindo a desenvolver o projeto “Café da Gorongosa” na Serra da Gorongosa na província de Sofala em Moçambique, uma iniciativa para a restauração dos ecossistemas florestais degradados, com benefícios socioeconómicos duradouros, pois envolve centenas de pequenos agricultores familiares e outros parceiros que defendem uma relação integrada entre o uso sustentável da terra, desenvolvimento comunitário e uma biodiversidade próspera.

Uma vez que a produção de café será feita em diferentes altitudes e diferentes níveis de sombreamento havendo assim uma interação entre as plantas de café e as espécies arbóreas, a qualidade química e

física dos grãos de café será afetada, pois o microclima terá efeitos individuais e interativos sobre os teores de vários compostos bioquímicos tais como a cafeína, a trigonelina, os ácidos clorogénicos, entres outros que têm uma forte relação com a qualidade química e sensorial da bebida de café (Worku *et al.*, 2018).

Assim, com a perspectiva a longo prazo que o Projeto Café da Gorongosa tem, montou-se uma unidade de processamento de café e as áreas de produção têm vindo a aumentar, onde se prevê que o café produzido localmente seja consumido a nível nacional assim como internacional. Por isso montou-se um ensaio para avaliar o efeito da altitude e dos diferentes níveis de sombreamento na qualidade química e física do café e assim se poder inferir sobre o efeito que o ambiente tem sobre a qualidade do mesmo. Neste estudo discrimina-se o resultado da avaliação da qualidade física e química dos cafés produzidos no PNG, nas diferentes altitudes e níveis de sombreamento, de acordo com os parâmetros internacionalmente reconhecidos.

## **1.2 Justificativa**

Moçambique é um dos poucos países na região da África Austral que possui áreas consideráveis de floresta nativa, onde se estima que existam cerca de 40 milhões de hectares de floresta do tipo Miombo o que corresponde a 51% da superfície do País (Falcão e Noa, 2016). Ao mesmo tempo é um dos países mais pobres do mundo, com uma elevada taxa de desflorestação e degradação das florestas devido ao aumento demográfico que o país tem vindo a registar, o que pressupõe um aumento crescente na procura dos recursos naturais para a sobrevivência, tornando-os escassos para responder a tamanha procura (Falcão e Noa, 2016; Siteo, Salomão *et al.*, 2012).

A problemática da desflorestação tem destruído cerca de 219 000 hectares de florestas por ano em Moçambique o que corresponde a um índice de desflorestação na ordem de 0.58% (CEAGRE e WI, 2016). Esta situação também tem afetado a Serra da Gorongosa na região central de Moçambique, que tem uma das maiores extensões de floresta montanhosa no País, e esta floresta tem sofrido perdas substanciais, subsistindo o risco de desaparecer devido à crescente procura de combustível lenhoso, agricultura itinerante entre outras atividades realizadas pelas populações locais. Face a esta situação, o PNG tem vindo a desenvolver medidas para uma gestão sustentável e duradoura o que envolve a co-gestão com as comunidades e a adoção de medidas amigas do ambiente, através de planos de uso e aproveitamento de terra, com vista à restauração da biodiversidade, garantir a segurança alimentar, bem como a resiliência contra as mudanças climáticas (WWF, 2016).

Assim, com as medidas tomadas pelo governo e parceiros para reverter a situação da desflorestação, iniciou-se em 2008 com o Projeto de Restauração da Gorongosa, onde desde então têm sido realizadas várias atividades para colmatar o problema. Para além do restabelecimento da Floresta Tropical do Monte da Gorongosa, como parte desta iniciativa também foram desenvolvidos modelos de co-gestão envolvendo as comunidades locais através da implementação de intervenções agrícolas sustentáveis e bases para o desenvolvimento futuro do turismo comunitário (WWF, 2016).

Outra estratégia de abordagem do problema da desflorestação é o Projeto Café da Gorongosa, que consiste numa consociação de plantas de café com árvores de espécies nativas (café sombreado), de modo a reflorestar as áreas devastadas, sendo que este projeto tem a particularidade de envolver grande parte dos agricultores locais. Segundo a WWF (2016), este projeto prevê o estabelecimento de mais de 33 hectares de plantação de café e um crescimento numa razão de cerca 100 hectares por ano nos próximos 6 anos, sendo que a respetiva unidade de processamento já foi estabelecida.

Sabe-se que o consumo global de café aumentou a uma taxa anual média de 1,9% nos últimos 50 anos. E este aumento pode ser atribuído aos seus atributos sensoriais bastante atraentes e por isso a procura de café tem aumentado bastante nos últimos anos (Lee *et al.*, 2015). Além disso, o facto do café ser originário de regiões altas de florestas e a capacidade deste poder desenvolver-se em zonas sombreadas (Hindorf e Omondi, 2011; Oestreich-Janzen, 2013), tornou-se uma alavanca para implantação desta cultura na Serra da Gorongosa, devido à similaridade das condições existentes com as requeridas pela cultura, bem como pelo facto de se considerar mais compatível a implantação de sistemas agroflorestais com café para a conservação da integridade do ecossistema, do que a implantação do café em sistemas de monocultura (De Beenhouwer *et al.*, 2013).

Com o Projeto Café da Gorongosa prevê-se também a comercialização do café a nível nacional e internacional, uma vez que este produto é uma importante fonte de divisas e riqueza pois é uma das bebidas mais consumidas no mundo, e por isso, é um produto bastante comercializado, cuja procura vem aumentando bastante nos últimos anos (Lee *et al.*, 2015; Samoggia e Riedel, 2018). Além disso, a qualidade do café é afectada pelas práticas de produção, pelo clima e pelos métodos de processamento e, adicionalmente, a composição química deste contribui significativamente para a qualidade do mesmo (Sualeh *et al.*, 2014). Portanto, uma vez que o café da Gorongosa será produzido em diferentes altitudes (entre ca 650 e 935 m) e sobre diferentes níveis de sombreamento, sendo que estes factores influenciam bastante a qualidade final do produto comercial, torna-se necessário saber qual é a qualidade do café produzido em diferentes tratamentos e estabelecer o nível de sombra que melhora a qualidade do café, cumprindo os parâmetros qualitativos exigidos no mercado internacional.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo geral**

- Avaliar o efeito do sombreamento e da altitude na qualidade físico-química do café da cultivar Costa Rica.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Identificar diferenças nos parâmetros químicos e físicos de qualidade do café devido a influência dos diferentes níveis de sombreamento e altitude.
- Determinar os níveis de sombreamento e altitude que dão melhor qualidade ao café.

## II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

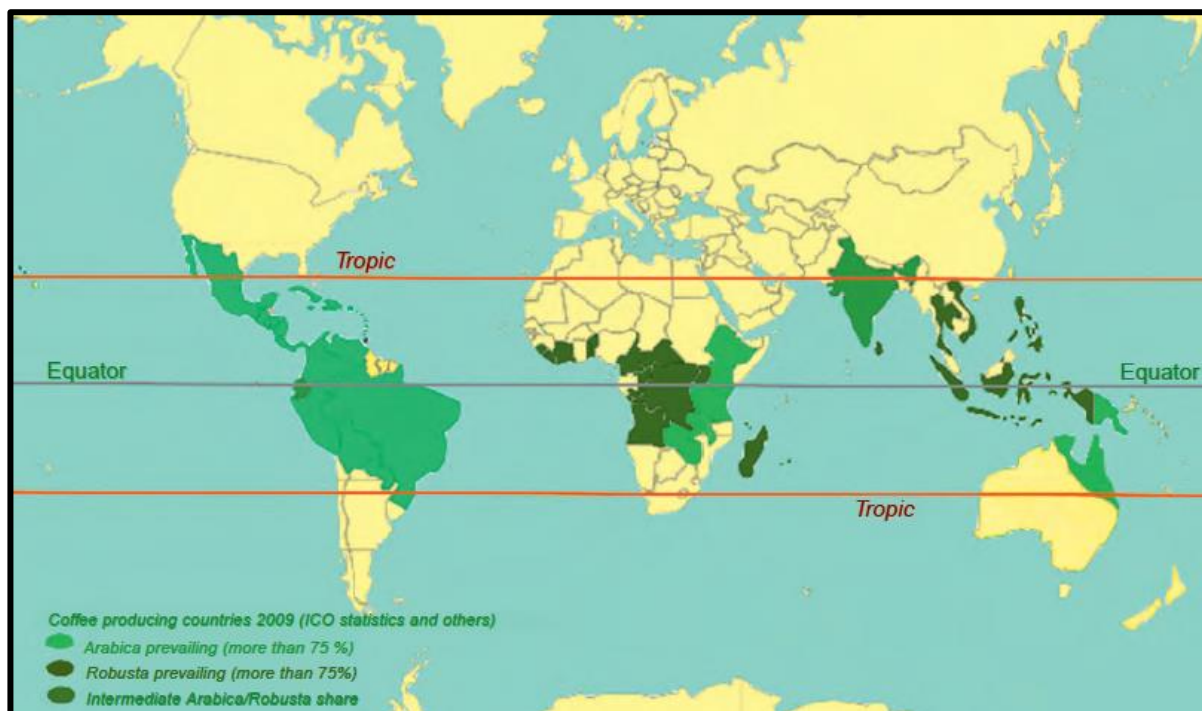
### 2.1 Particularidades do café

#### 2.1.1 Origem e botânica

Diz-se que as bagas vermelhas de café foram descobertas por volta de 850 DC na região de Kefa, no norte da África, que agora faz parte da Etiópia e foram os primeiros a espalhar pelo comércio de escravos para os impérios árabes (Arauz *et al.*, 2017). O primeiro uso do café pelos humanos começou como em muitas outras plantas, onde eles usavam várias partes da planta do café tais como folhas, frutos e sementes para a sua alimentação. Como os frutos maduros do café são vermelhos, com a polpa doce contendo a estimulante cafeína, é mais provável que eles tenham atraído a atenção das pessoas como fonte de comida. O curto período de disponibilidade de polpa de café fresca pode ter resultado na mudança do hábito de mastigar os frutos fresco para secos e com o passar do tempo, este último hábito foi se desvalorizando, passando-se a usar o café em misturas sólidas com outros itens (Teketay, 1999).

O café pertence à família *Rubiaceae*, que tem cerca de 500 géneros e mais de 6000 espécies (Diby *et al.*, 2016). O género *Coffea* é originário de África e inclui pelo menos 103 espécies (Davis *et al.*, 2006), destacando-se comercialmente as espécies *Coffea arabica* L. (Café arábica) e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Café Robusta), que são responsáveis por ca 99% da produção mundial de grão verde, contribuindo com aproximadamente 2/3 e 1/3, respectivamente. Essas duas espécies diferem em aspectos físicos, composição química e características da bebida. A bebida de café arábica é apreciada por sua qualidade superior de corpo e aroma, enquanto a robusta possui um sabor mais agressivo e contém maiores quantidades de sólidos solúveis, antioxidantes e cafeína (Arauz *et al.*, 2017).

*C. arabica* é originária das florestas tropicais nas terras altas do sudoeste de Etiópia e é um café de alta qualidade (Krishnan, 2017) (Fig. 2.1). Cultivares de *C. canephora*, incluindo café robusta, crescem em menor altitude e com bom desempenho nas zonas equatoriais, com temperaturas elevadas e nos trópicos húmidos, e ocorrem naturalmente na bacia do Congo ocidental. Existem também duas outras espécies de potencial económico menor, *Coffea liberica* W. Bull ex. Hiern (Café libérica) e *Coffea excelsa* A. Chev (Café Excelsa) que são geneticamente consideradas um único complexo. O *C. liberica* é originária da África Ocidental em torno da Libéria enquanto *C. excelsa* vem das partes mais secas da África Central, principalmente da República Centro-Africana (Diby *et al.*, 2016). As espécies *C. liberica* e *Coffea dewevrei* De Wild. & T. Durand são geralmente utilizadas em programas de melhoramento (Bicho *et al.*, 2012a). As explorações desta cultura podem variar desde apanhar frutos de plantas selvagens em florestas até ao estabelecimento de plantações em pleno sol com manejo intensivo, mas também em sistemas agroflorestais de café, onde as plantações são feitas sob um dossel mais ou menos denso de várias espécies de árvores de sombra (De Beenhouwer *et al.*, 2013).



**Figura 2.1:** Distribuição da produção de café arábica e robusta a nível global.

**Fonte:** Oestreich-Janzen (2013).

### 2.1.2 Importância e produção

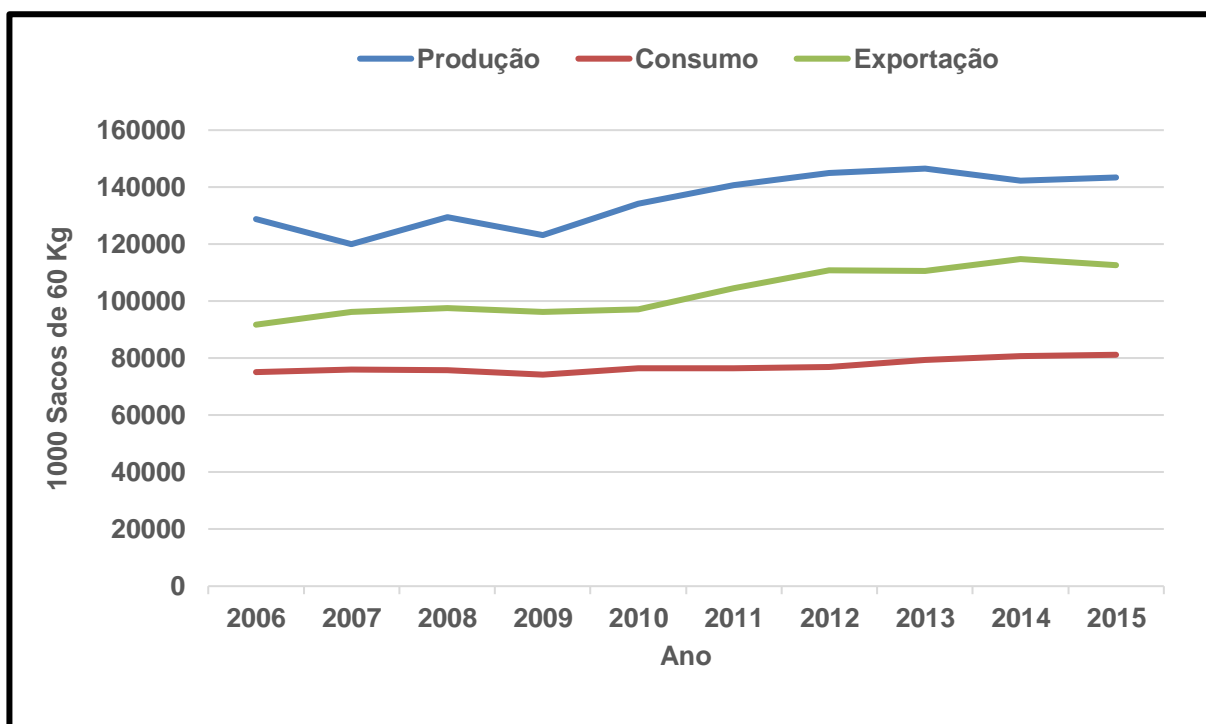
Em todo o mundo, cerca de 125 milhões de pessoas dependem do café para sua subsistência, com mais de 50 países produtores e exportadores de café, quase todos em vias de desenvolvimento. Como qualquer comércio, o comércio de café tem sido caracterizado por ciclos de altos e baixos desde a década de 1880, principalmente devido a um desequilíbrio da oferta e da procura (Krishnan, 2017).

Em 2015/2016, cerca de 151,3 milhões de sacos de café de 60 kg foram consumidos em todo o mundo. Os EUA como país foram o maior consumidor de café (25 milhões de sacos). O Brasil foi o segundo maior consumidor (20 milhões de sacos) e o maior produtor de café (55 milhões de sacos) no mundo. A União Europeia tem um consumo de cerca de 42 milhões de sacos de 60 kg, enquanto as maiores taxas de crescimento do consumo de café foram encontradas na Ásia e Oceânia (Martini *et al.*, 2016; Samoggia e Riedel, 2018). Os Escandinavos têm a maior consumo de café per capita (Finlândia 12,2 kg). Itália, um país conhecido por sua forte cultura do café, tem um consumo de café per capita de 5,6 kg. Os EUA, onde o café também está profundamente enraizado na cultura do consumidor tem um consumo de café per capita de 4,5 kg. Em comparação, o Reino Unido e o Japão, como países com uma longa tradição do consumo de chá, ambos têm um menor consumo per capita de 3,6 kg (Samoggia e Riedel, 2018).

As razões para este aumento contínuo no consumo de café incluem melhor qualidade através da seleção de melhores cultivares e melhoramento destas, melhores práticas agrícolas, a criação de lojas especializadas e uma mudança na imagem do café através da disseminação de informações sobre os benefícios para a saúde do consumo de café a longo prazo. Hoje, o café é considerado um alimento funcional, principalmente devido ao seu alto conteúdo de compostos que exercem propriedades

biológicas benéficas nos seres humanos. O sabor e a riqueza característicos do aroma do café tornam-na numa bebida única, com quase mil compostos voláteis identificados em café torrado (Farah, 2011).

O café é um mercado em crescimento e proporciona benefícios económicos em cada etapa do processo global da cadeia de valor, dos produtores aos consumidores. Nas últimas duas décadas, a produção global de café aumentou quase 61%, de 94,6 milhões de sacos em média na primeira metade da década de 1990 para 152,2 milhões de sacos em 2016/2017 (Krishnan, 2017) (Fig. 2.2). Durante este período, o consumo interno nos países produtores dobrou, enquanto o mercado global cresceu cerca de 55%. Como resultado, a participação da produção exportável na produção global caiu de 77% para 72% em média. No entanto, a maior parte do café produzido ainda é exportado, tornando-se um dos produtos agrícolas mais comercializados no mundo, com um valor total de exportação de USD 19 bilhões em 2016 (ICO, 2018).



**Figura 2.2:** Produção, consumo e exportação mundial de café entre 2006 e 2015.

**Fonte:** Adaptado de Krishnan (2017).

A previsão de produção mundial de café para 2018/19 é de 11,4 milhões de sacos (60 kg) acima do ano anterior que atingiu um recorde de 171,2 milhões de sacos principalmente devido à produção recorde do Brasil. A previsão de consumo global é de cerca de 163,2 milhões de sacos e espera-se que as exportações possam responder à forte procura nos países em quem a produção interna não consiga suprir a procura (USDA, 2018).

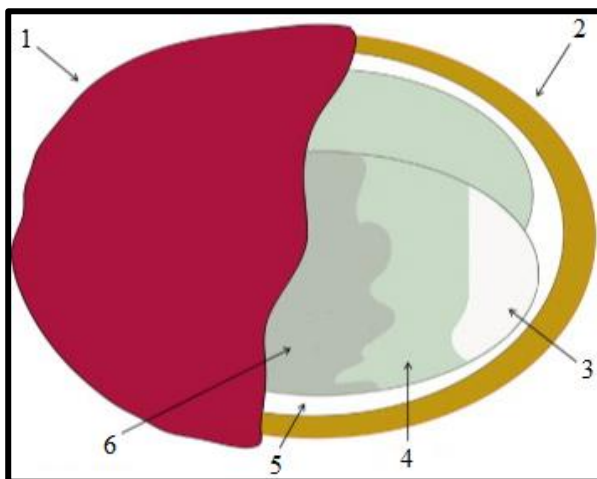
### 2.1.3 Estrutura do grão e valor nutricional

O fruto do café (também chamado de baga ou cereja) consiste em uma pele exterior ou pericarpo lisa e resistente, geralmente verde em frutos verdes, mas que se torna vermelho-violeta ou vermelho escuro quando maduro (mesmo amarelo ou laranja em determinados genótipos) (Fig. 2.3). O pericarpo cobre

a polpa macia amarelada, fibrosa e doce ou o mesocarpo externo. Seguem-se uma camada de mucilagem translúcida, incolor, fina, viscosa e altamente hidratada (também camada de pectina), e um fino endocarpo de cor amarelada, também chamado de “pergaminho”. Finalmente, a pele de prata (ou epiderme) abrange cada hemisfério do grão de café (endosperma) (Esquivel e Jiménez, 2012; Janissen e Huynh, 2018).

O exocarpo confere resistência externa ao fruto. É uma camada monocelular protegida por uma substância cerosa. O mesocarpo é uma polpa carnuda, fibrosa e doce, que é rica em carboidratos (glicose, frutose e pectina), proteínas, gordura, minerais lipídicos e quantidades consideráveis de taninos, polifenóis e cafeína (Janissen e Huynh, 2018). O endocarpo, a chamada camada de pergaminho, é um polissacarídeo parecido com um papel fino, amarelado e friável, composto principalmente de  $\alpha$ -celulose, hemicelulose, lenhina e cinzas (Esquivel e Jiménez, 2012). A pele prata é predominantemente composta por polissacarídeos, especialmente celulose e hemiceluloses, além de monossacarídeos, proteínas, polifenóis e outros compostos menores. Esta camada é rica em fibras dietéticas totais e compostos fenólicos com atividade antioxidante significativa (Janissen e Huynh, 2018). A pele de prata cobre as duas sementes elípticas, que por sua vez contêm o endosperma e os embriões (Esquivel e Jiménez, 2012).

No interior das camadas referidas existem, geralmente, duas sementes, isto é, os grãos de café propriamente ditos, que podem variar em tamanho, tonalidade, forma e densidade, de acordo com as condições de crescimento e o genótipo. A estrutura celular do grão de café é caracterizada por paredes muito grossas que tornam as sementes extremamente duras (Berbert *et al.*, 2001).



#### Legenda:

1. Pele exterior (pericarpo ou exocarpo)
2. Polpa (mesocarpo)
3. Grão (endosperma)
4. Pele de prata (epiderme)
5. Mucilagem (camada de pectina)
6. Pergaminho (endocarpo)

**Figura 2.3:** Representação esquemática das camadas do fruto de café.

**Fonte:** Adaptado de Esquivel e Jiménez (2012).

Os grãos de café verde são compostos principalmente, como a maioria dos tecidos vegetais, por polissacarídeos insolúveis como celulose e hemiceluloses (cerca de 50%). Eles também contêm glícidos solúveis, como os monossacarídeos frutose, glicose, galactose e arabinose, os oligossacarídeos sacarose (responsáveis por mais de 90% dos oligossacarídeos), rafinose e estaquiose, e polímeros de galactose, manose, arabinose e glicose. Os carboidratos solúveis atuam ligando-se ao aroma, estabilizando a espuma, sedimentando e aumentando a viscosidade do extrato

(Janissen e Huynh, 2018). Além disso, também estão presentes ácidos alifáticos não voláteis (tais como ácidos cítrico, málico e quínico) e ácidos voláteis (tais como ácidos acético, propanoico, butanoico, isovalérico, hexanoico e decanoico). Óleos e ceras também são constituintes importantes, responsáveis por 8 a 18% da massa seca, juntamente com proteínas e aminoácidos livres (9-12%) e minerais (3-5%) (Gonzalez-Rios *et al.*, 2007; Esquivel e Jiménez, 2012).

Os grãos de café possuem constituintes químicos bioativos como a cafeína, a trigonelina, ácidos clorogênicos (ACG) entre outros (Esquivel e Jiménez, 2012). A cafeína é o principal alcaloide dos grãos de café, respondendo por 1 a 4% (base seca). Compostos fenólicos são encontrados principalmente em grãos de café verde como ACG (até 12% de sólidos), que são ésteres de ácidos trans-cinâmicos e ácidos quínicos (Alonso-Salces *et al.*, 2009). A fração lipídica dos grãos de café verde é composta principalmente de triacilgliceróis, esteróis, tocoferóis e diterpenos da família caurina, compreendendo 20% do total dos lípidos (Farah e Donangelo, 2006).

O processo de torra provoca uma série de transformações na composição dos grãos de café, pois alguns compostos são degradados ou modificados (Franca *et al.*, 2009). O café torrado é composto por carboidratos (38–42 % base seca), melanoidinas (23%), lípidios (11–17%), proteínas (10%), minerais (4,5–4,7%), ACG (2,7–3,1%), ácidos alifáticos (2,4-2,5%), cafeína (1,3-2,4%), etc. Dos ca. 850 compostos voláteis identificados até agora no café torrado, apenas cerca de 40 contribuem para o aroma (Delgado-Andrade e Morales, 2005; Farah e Donangelo, 2006).

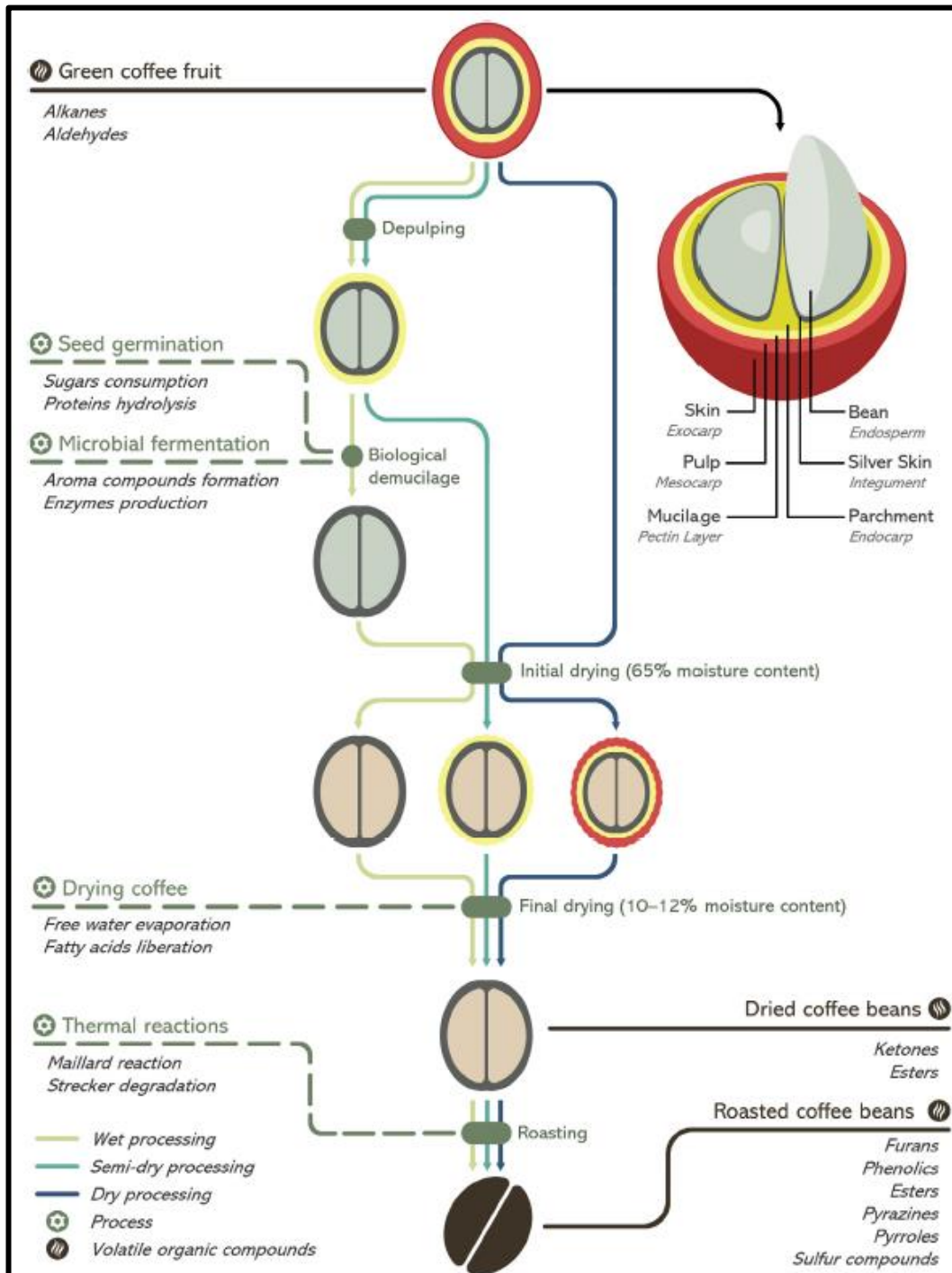
## **2.2 Tecnologias de processamento de café.**

A colheita dos frutos é a primeira etapa no processamento pós-colheita de café. O desenvolvimento heterogêneo dos frutos leva à presença simultânea de diferentes estágios de maturação na mesma planta, isto é, verde (imaturo), cereja (maduro) e passa (demasiado maduro) (Pezzopane *et al.*, 2003). Quando maduros, os frutos do café apresentam menores concentrações de compostos fenólicos, o que implica redução da adstringência. Além disso, as cerejas de café apresentam um maior teor de compostos voláteis (aldeídos, cetonas e álcoois superiores) em comparação com os frutos imaturos (Janissen e Huynh, 2018). Assim, a colheita de café deve ser iniciada quando a planta atinge um estágio homogêneo de maturação com uma prevalência mínima de frutos imaturos (Lidon e Silvestre, 2007).

A colheita de café é predominantemente realizada manualmente ou usando colhedoras mecânicas baseadas na vibração de galhos de árvores (por exemplo, máquinas autopropelidas, máquinas de decapagem portátil e mecânica). A colheita mecânica é usada essencialmente quando as plantas possuem uma idade superior a dois anos e meio e quando cerca de 80% dos frutos estão maduros. A seleção de frutos permite a seleção exclusiva no estágio ideal de maturação (cerejas). A obtenção de apenas cerejas de café maduras através de colheita selectiva é, no entanto, dispendiosa e trabalhosa. Nesse sentido, muitos produtores escolhem entre a extração ou colheita mecânica de frutos de café, seguidos da retirada de grãos imaturos por meio de triagem (Lidon e Silvestre, 2007).

Após a colheita, o processamento do café deve começar o mais rápido possível para evitar a deterioração do fruto por fermentação desfavorável ou formação de mofo o que pode comprometer a

qualidade da bebida (Lidon e Silvestre, 2007; De Bruyn *et al.*, 2017). As camadas exteriores do fruto do café (isto é, a pele e a polpa) podem facilmente ser removidas por processos mecânicos, enquanto a mucilagem, o pergaminho e a pele prateada por estarem firmemente ligadas aos grãos precisam de outros processos subsequentes para a sua remoção (De Bruyn *et al.*, 2017). Segundo de Melo Pereira *et al.* (2019), existem três métodos diferentes comumente usados para eliminar essas camadas, o processamento por via seca, por via semi-seca e por via húmida (Fig. 2.4).



**Figura 2.4:** Representação esquemática de métodos de processamento pós-colheita e as principais alterações bioquímicas que ocorrem no café.

**Fonte:** de Melo Pereira *et al.* (2019).

### **2.2.1 Processamento por via seca**

O processamento por via seca, que resulta no café chamado “café coco”, “não lavado” ou “café natural”, é o método mais antigo e simples de processamento de café. Após a colheita, os frutos são separados das impurezas (varas, pedras e folhas), posteriormente lavados e classificados de acordo com sua maturação. Os frutos inteiros do café são em seguida espalhados no chão ou em terreiros (terra, plataformas, concreto ou asfalto) em camadas com aproximadamente 10 cm de espessura durante o dia e o café é recolhido ao anoitecer para não ganhar humidade. A secagem é continuada até a humidade dos grãos atingir cerca de 11–12% (de Melo Pereira *et al.*, 2019).

Para reduzir o tempo de secagem pode-se usar os secadores mecânicos depois de uma pré-secagem ao sol por alguns dias. Durante 10 a 25 dias de secagem ao sol, ocorre uma fermentação microbiana natural pois existem enzimas que são secretados, permitindo assim a quebra da polpa e da mucilagem (Silva *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2015). O processamento a seco é usado principalmente em países onde a chuva é escassa e longos períodos de sol estão disponíveis para secar o café adequadamente, como o Brasil e a Etiópia (Silva *et al.*, 2000). A operação de secagem é o passo mais importante porque afeta a qualidade final do café. Frutos muito secos tornam-se frágeis e produzem muitas sementes quebradas (defeituosas) durante o descasque. Por outro lado, frutos que não são suficientemente secos tornam-se mais vulneráveis à deterioração por fungos filamentosos e ataques de bactérias. Os cafés naturais que foram processados adequadamente a seco podem ser um produto de qualidade com mercado próprio (Lidon e Silvestre, 2007; De Bruyn *et al.*, 2017).

### **2.2.2 Processamento por via semi-seca**

O processamento semi-seco, também chamado de método “natural descascado”, apresenta etapas dos métodos por via seca e húmida (Duarte *et al.*, 2010; Vilela, Pereira *et al.*, 2010). Os frutos de café são selecionados (somente frutos maduros) e despulpados por um processo mecânico. Em seguida as bagas são transferidas para plataformas de concreto ou outras para a etapa de secagem e a fermentação também é iniciada para remover a mucilagem aderente aos frutos (Vilela *et al.*, 2010).

Semelhante ao método de processamento a seco, o fruto despulpado é exposto à temperatura local e a outras condições ambientais. Este método de processamento só pode ocorrer em países onde a humidade é baixa e quando se tem café coberto de mucilagem doce que pode ser rapidamente seca sem a necessidade de fermentação (de Melo Pereira *et al.*, 2017).

### **2.2.3 Processamento por via húmida**

O produto final do método obtido pelo processamento por via húmida é chamado de café “pergaminho”, “lavado” ou “húmido”. Neste processamento a polpa (o exocarpo e parte do mesocarpo) é removida mecanicamente. Os grãos são submetidos a uma fermentação durante a 24-48 horas (dependendo da temperatura, da espessura da camada em fermentação, da concentração das enzimas e do método escolhido), em tanques submersos para permitir a degradação microbiana da camada remanescente

de mesocarpo aderente ao pergaminho. Os grãos são então secos ao sol até atingir 10-12% de humidade (Lidon e Silvestre, 2007; de Melo Pereira *et al.*, 2019).

Este processo surgiu quando o café arábica começou a ser cultivado em regiões tropicais, como Colômbia, América Central e no estado americano Havaí. Nestes países, a chuva abundante e as temperaturas elevadas causaram uma fermentação indesejada imediatamente após a colheita. A maneira mais prática de evitar essa fermentação prejudicial era remover o tecido externo de mesocarpo, rico em açúcares, e submeter os frutos despulpados a um processo de fermentação em tanques submersos (de Melo Pereira *et al.*, 2017). Por este método, a fermentação pode ser controlada em termos de tempo, temperatura e troca de água, para que o desenvolvimento espontâneo de microrganismos possa ser melhor gerido, de modo a minimizar quaisquer impactos adversos na qualidade do café ou para incentivar impactos desejáveis na qualidade do produto final (de Melo Pereira *et al.*, 2017; 2019).

O facto de que o método de processamento por via húmida produz grãos torrados e bebidas de café caracteristicamente diferentes daqueles produzidos com o método seco é bem aceite no meio científico, pois os cafés do processamento por via húmida são conhecidos por apresentarem melhor qualidade, menor corpo, maior acidez e mais aroma que os cafés “não lavados”. Essas diferenças sensoriais são atribuídas principalmente pelo facto de que apenas cerejas de café totalmente maduras são usadas para processamento húmido, enquanto frutos de todos os estágios de maturação são utilizados para processamento por via seca (Knopp *et al.*, 2006; Lidon e Silvestre, 2007; de Melo Pereira *et al.*, 2017).

#### **2.2.4 Torra do café**

A torra do café é um processo complexo de aplicação e transferência de calor em grãos verdes, onde ocorrem transformações das propriedades químicas e físicas destes, com concomitante perda de peso, aumento de volume e consequente diminuição da densidade (Fareez Edzuan *et al.*, 2015; Noor Aliah *et al.*, 2015). O objetivo principal deste processo é o desenvolvimento do sabor e aroma desejados. Além disso, a torra é necessária para gerar a cor escura e uma textura quebradiça que torna possível a moagem e a extração (Schenker, 2000). Se por um lado, os grãos não torrados contêm níveis de ácidos, proteínas, açúcares e cafeína semelhantes, ou mais elevados que os grãos torrados, por outro, não possuem o sabor do café torrado (Bicho *et al.*, 2012b).

Durante a torra os grãos de café são submetidos a temperaturas entre 180-230 °C durante 12 a 15 minutos, onde há uma combinação do binómio tempo-temperatura dependendo das transformações na composição química e biológica e consequentemente do grau de torra que se pretende. Neste processo, a estrutura dos tecidos começa a mudar em aproximadamente 50 °C e a desnaturação das proteínas bem como a evaporação vão aumentando com a temperatura. Acima dos 100 °C ocorrem as reações de Maillard e Strecker relacionados respectivamente com a transformação para a cor castanha e a degradação de aminoácidos dando origem ao aumento de algumas substâncias incluindo os melanomas (Mussatto *et al.*, 2011; Bicho *et al.*, 2012b). Quando se atinge temperaturas de 180 °C os grãos começam a libertar substâncias gasosas (vapor de água, CO<sub>2</sub> e CO) e ocorre o aumento do

volume destes. Finalmente entre os 180-200 °C, com a quebra do endosperma, o grão desfaz-se e começam a desenvolver-se aromas com a caramelização dos açúcares (Lidon e Silvestre, 2007).

Para prevenir a torra excessiva que pode provocar um excessivo escurecimento e, a perda de aroma e sabor e perigar a qualidade do café, o café deve ser rapidamente removido da câmara de torra e imediatamente arrefecido com uma corrente de ar frio ou com água pulverizada (Mussatto *et al.*, 2011; Bicho *et al.*, 2012b). Em seguida, os grãos são embalados inteiros e outros passam por vários estágios de trituração e finalmente o café é selado. No entanto, se o objetivo for a produção de café instantâneo, após a trituração ocorre a extração dos sólidos solúveis e compostos voláteis responsáveis pelo sabor e aroma com a água quente a temperatura de 175 °C sob pressão que em seguida passa por um processo de secagem ou liofilização (Mussatto *et al.*, 2011).

### 2.3 Composição química do café

O café contém vários fitoquímicos bioativos diferentes, principalmente a cafeína, mas também outras metilxantinas, como teobromina e teofilina, diterpenos, ácidos clorogénicos, tocoferóis, ácidos hidroxicinâmicos e flavonóis (De Mejia e Ramirez-Mares, 2014). Todavia, a composição química (Tabela 2.1) do café verde depende principalmente da cultivar. Entretanto, variações são possíveis devido a condições agroclimáticas, práticas agrícolas, tecnologias de processamento e armazenamento (Ramalakshmi e Raghavan, 1999; Oestreich-Janzen, 2013).

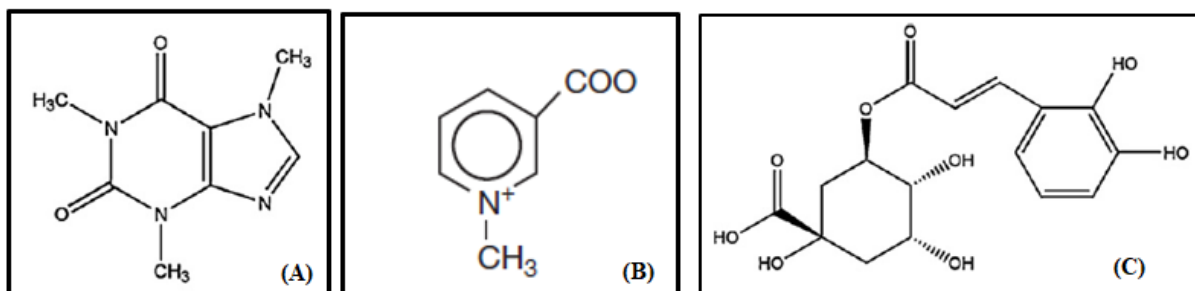
**Tabela 2.1:** Composição química do café.

<b>Constituinte</b>	<b>Arábica Verde (%PS*)</b>	<b>Robust a verde (%PS)</b>	<b>Arábica torrado (%PS)</b>	<b>Robusta torrado (%PS)</b>	<b>Arábica instantâneo (%PS)</b>	<b>Robusta instantâneo (%PS)</b>
<b>Cafeína</b>	1,3	2,3	1,3	2,4	2,5	3,8
<b>Trigonelina</b>	0,8	0,7	0,3	0,3	0,7	0,4
<b>Glicídios</b>	53,7	50,7	38	42	46,6	44,7
<b>Ácidos clorogénicos</b>	8,1	9,9	2,5	3,8	2,6	1,6
<b>Lípidos</b>	15,2	9,4	17	11	0,11	0,26
<b>Aminoácidos</b>	11,1	11,8	7,5	7,5	6,2	6,0
<b>Ácidos orgânicos</b>	2,3	1,7	2,4	2,6	8,1	7,9
<b>Melanoidinas</b>	-	-	25,4	25,9	25,1	28,6
<b>Aromas voláteis</b>	Traços	Traços	0,1	0,1	-	-
<b>Cinzas (minerais)</b>	3,9	4,4	4,5	4,7	8,0	7,4

**Fonte:** Adaptado de Oestreich-Janzen (2013).

\*Porcentagem em peso seco.

Entre os componentes mais relevantes do café verde destacam-se os alcaloides (cafeína e trigonelina), os compostos fenólicos (ácidos clorogénicos) sendo estes os mais relacionados com a qualidade do café (Oestreich-Janzen, 2013) (Fig. 2.5).



**Figura 2.5:** Representação química da cafeína (A), da trigonelina (B) e do ácido clorogênico (C).

**Fonte:** Cano-Marquina, Tarín e Cano (2013); Oestreich-Janzen (2013).

### 2.3.1 Cafeína

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um composto químico que pertence a um grupo de produtos químicos encontrados naturalmente em mais de 60 plantas. A cafeína é amplamente utilizada em todo o mundo, e é considerada a substância psicoativa mais comumente usada. Esta substância pode ser encontrada no café (a principal fonte), chá, cacau e chocolate, bem como em alguns refrigerantes, que contêm cafeína derivada do extrato da noz de *Cola acuminata*, adicionados à bebida para um sabor específico e único (Valek *et al.*, 2004).

A cafeína é um derivado xantínico de ocorrência natural e alcalóide de purina, que é rápida e completamente absorvido pelos intestinos, tornando-o 100% biodisponível. Está é absorvida em média de 30 a 45 minutos. Embora relativamente benigna em indivíduos saudáveis, a cafeína exerce vários efeitos cardiovasculares e neuroendócrinos de forma aguda (Grosso *et al.*, 2017; Grant *et al.*, 2018). Durante a circulação, a cafeína é metabolizada no fígado através da desmetilação sucessiva e degradação oxidativa do ácido úrico. Os produtos de degradação são excretados através dos rins (Cano-Marquina *et al.*, 2013; Oestreich-Janzen, 2013).

Na planta do café, a cafeína está presente em todas as partes aéreas da planta. O facto deste alcaloide ser usado como defesa química intrínseca contra herbívoros, moluscos, insetos, fungos ou bactérias têm sido muito discutidos, sendo difíceis de obter resultados experimentais claros (Oestreich-Janzen, 2013).

A biossíntese da cafeína ocorre nas folhas, no pericarpo e na parte externa do fruto, embora nas primeiras o teor seja baixo. Nos tecidos do pericarpo, a luz estimula fortemente a etapa de metilação da síntese de cafeína. Quando a semente dentro do fruto começa a crescer, o alcaloide é translocado através das membranas e acumula-se no endosperma. Aqui, a concentração final é alcançada 8 meses após a floração (Ashihara, 2006; Oestreich-Janzen, 2013).

### 2.3.2 Trigonelina

A trigonelina, o N-metilpiridínio-3-carboxilato, é, após a cafeína, o segundo alcaloide mais importante do café, com cerca de 1% no grão verde. Durante o desenvolvimento das folhas, é sintetizado nas folhas e no pericarpo das frutas e acumulado nas sementes. Os precursores diretos são o ácido nicotínico e a nicotina amida, derivados do ciclo de nucleotídeos da piridina (Oestreich-Janzen, 2013).

A trigonelina é rapidamente degradada durante a torra, dependendo fortemente da temperatura e do tempo durante o processo, com cerca de 60 a 90% de perdas por transformação em ácido nicotínico, com intermediários reativos e produtos adicionais de recombinação incluindo pirróis. Os sub-produtos da trigonelina têm um impacto na percepção aromática global do café torrado e da bebida. A niacina (ácido nicotínico), o produto de degradação da trigonelina, serve para o fornecimento de vitaminas na nutrição humana, e durante a torra transforma-se em vitamina B3 (Oestreich-Janzen, 2013).

O conteúdo de trigonelina em grãos de café verde está na faixa de 0,88 a 1,77% em Café Arábica e 0,75 a 1,24% em Café Robusta. Várias propriedades promotoras de saúde, como efeitos hipoglicêmicos, hipocolesterolêmicos, antitumorais, anti-tensão ou anti-sépticos, têm sido atribuídas à trigonelina (Sridevi e Giridhar, 2013).

### 2.3.3 Ácidos clorogénicos

O ACG é um polifenol solúvel formado pela esterificação do ácido cafeico com ácido quínico (Gauthier *et al.*, 2016), que possui uma infinidade de propriedades benéficas para a saúde humana, incluindo o hepatoprotetora (Zhou *et al.*, 2016), antioxidante (Sato *et al.*, 2011), antiagregante plaquetária, anticancerígena (Barahuie *et al.*, 2017) e proteção da morte celular neuronal (Mikami e Yamazawa, 2015).

Nas plantas, os ACGs têm várias funções benéficas, incluindo a síntese da parede celular, cicatrização de danos e formação de pelos radiculares (Narukawa *et al.*, 2009). Entretanto, efeitos negativos foram observados com base na concentração dos ACGs, incluindo raiz primária reduzida, comprimento de pelos radiculares, número total de pelos radiculares (Narukawa *et al.*, 2009) e indução de raízes (Franklin e Dias, 2011) quando as concentrações de ACG excederam 50 mg L<sup>-1</sup>, sugerindo uma concentração ideal, necessária para efeitos benéficos. Há também evidências sugerindo que os ACGs têm efeitos inibitórios no crescimento de fungos, provavelmente devido ao seu papel na defesa da planta (Janissen e Huynh, 2018). No entanto, os ACGs apresentam algum sinergismo com reguladores de crescimento de plantas, como auxinas e citocinas (Franklin e Dias, 2011), juntamente com muitas outras funções da planta. Como tal, os ACGs fora das concentrações padrão resultam em efeitos fitotóxicos. Isto tem importantes inconvenientes ambientais e implicações a longo prazo se o café é usado como fertilizante (Janissen e Huynh, 2018).

Os principais grupos de ACGs encontrados nos grãos de café verde incluem os ácidos cafeoilquínicos (ACQA), dicafeoilquínicos (diCQA), feruloilquínicos (FQA), *p*-cumaroilquínicos (*p*-CoQA) e ésteres mistos do ácido cafeico e ferúlico com ácido quínico com, pelo menos, três isómeros por grupo sendo que estes são biossintetizados no perisperma e acumulados no endosperma dos grãos. Os di-CQAs são convertidos em mono-CQAs durante a última fase de maturação do fruto. Este último é importante para a gestão da colheita, uma vez que os di-CQAs afectam negativamente a qualidade sensorial do café e, no caso de maturação não uniforme e colheita simultânea, os imaturos podem ser incluídos na cultura, caso mono-CQAs já tenham sido formados (Oestreich-Janzen, 2013).

O café tem, de longe, a maior concentração de ACGs do que qualquer outra espécie no reino vegetal, estando presente em 6-7% no café arábica e até 10% no café Robusta. Isto vem provar que níveis mais baixos de ACG também podem explicar a superioridade de *C. arabica* na qualidade da bebida quando comparada com *C. canephora*. A grande diferença no conteúdo de ACG destas duas espécies foi considerada um dos factores responsáveis pelas diferenças de sabor entre as mesmas (Farah e Donangelo, 2006).

Durante o processamento do café, os ACG podem ser parcialmente isomerizados, hidrolisados ou degradados em compostos de baixo peso molecular. As altas temperaturas que caracterizam este processo também induzem a síntese de lactonas e a polimerização dos ACGs com outros componentes do café para formar melanoidinas. Estes compostos apresentam propriedades benéficas para a saúde, não só devido à sua potente atividade antioxidante, mas também como agentes hepatoprotetores, hipoglicemiantes e antivirais. (Farah e Donangelo, 2006; Oestreich-Janzen, 2013).

## **2.4 Impacto do café na saúde**

Existem muitos benefícios para a saúde humana associados a compostos bioativos, como os compostos fenólicos descritos anteriormente (ACGs) e cafeína, que incluem efeitos antibióticos, anti-inflamatórios, hepatoprotetores, antioxidantes e melhoramentos cognitivos. Esses compostos ocorrem em diferentes quantidades nos diversos alimentos e material vegetal (Janissen e Huynh, 2018).

O caso do café parece semelhante ao do chocolate de várias maneiras. Tradicionalmente recomendado como uma bebida para reduzir ou omitir devido a um perfil global de risco, o café foi progressivamente mudando para uma posição menos negativa devido à sua fitoquímica mais conhecida que inclui uma mistura complexa de compostos, em que a cafeína talvez tenha sido a mais conhecida, no entanto, o café também é rico em outras substâncias bioativas com uma ampla gama de efeitos fisiológicos, sendo que a lista inclui até 1000 fitoquímicos descritos. Acredita-se que esses componentes do café tenham um potencial importante como antioxidantes e removedores de radicais livres. Os constituintes do café podem reduzir a inflamação crónica e, por sua vez, proteger contra a degradação do ácido desoxirribonucleico (DNA) e, em última instância, melhorar o risco de doenças tais como doenças crónicas, como diabetes (DM II), artrite, aterosclerose e cancro (Frost-Meyer e Logomorsinho, 2012).

### **2.4.1 Efeito do café no *Diabetes mellitus* tipo II**

A condição é caracterizada por resistência à insulina, perda e disfunção de células beta pancreáticas, levando à hiperglicemia (Costabile *et al*, 2018). No entanto, estudos provam que há uma associação inversa entre o consumo de café e a incidência de *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM II) (De Meija e Ramirez-Mares, 2014). Estudos efetuados em humanos confirmaram que cada chávena adicional de café estava associada a uma redução de 7% no risco de diabetes incidente. Um nível semelhante de proteção foi encontrado para o café descafeinado (Cano-Marquina *et al.*, 2013).

Isto significa que, embora o café cafeinado possa induzir um aumento na resposta glicémica, outros compostos bioativos presentes no café, como os ácidos clorogénicos e outros compostos fenólicos,

magnésio e trigonelina, podem neutralizar esse efeito, alterando a absorção de glicose, o metabolismo da glicose no fígado, e a sensibilidade à insulina. Além disso, o efeito do café na saúde cardiovascular é uma controvérsia em andamento, pois o consumo de café mostrou ter efeitos adversos no colesterol sérico, na pressão sanguínea e na homocisteína plasmática (de Meija e Ramirez-Mares, 2014).

O efeito protetor do café também foi detetado em populações particularmente suscetíveis, pois estudos constataram que alto nível (12 chávenas dia<sup>-1</sup>) de consumo de café reduziu o risco de desenvolver diabetes em 67% (Zhang *et al.*, 2011). A exigência de uma ingestão moderada ou alta para obter proteção também foi encontrada em outro estudo observacional prospetivo onde se verificou uma redução significativa de 25% no risco, apenas em indivíduos que relataram uma ingestão de  $\geq 4$  porções dia<sup>-1</sup> (Fuhrman *et al.*, 2009).

Este efeito protetor do café é derivado da existência de antioxidantes, como os ACGs, cafestol entre outros modificam positivamente a regulação dos níveis de glicose no sangue em tecidos periféricos. Embora a perda e/ou disfunção das células beta seja um elemento chave no DM II, pouco se sabe sobre o impacto dos componentes do café na regulação da massa celular beta, incluindo a sobrevivência em condições de hiperglicemia, lipotoxicidade e inflamação (O'Keefe *et al.*, 2013; Costabile *et al.*, 2018).

#### **2.4.2 Efeito do café na pressão arterial**

A hipertensão é um forte factor de risco para acidente vascular cerebral e doença coronária (Miranda *et al.*, 2018). Os efeitos agudos do café são transitórios e, com ingestão regular, a tolerância desenvolve efeitos hemodinâmicos e humorais da cafeína (Robertson *et al.*, 1981).

Dados emergentes sugerem que interações sinérgicas de predisposição genética com factores de dieta e estilo de vida podem desempenhar um papel importante no comprometimento da pressão arterial (PA) e na patogénese da hipertensão. Embora, a maioria dos estudos observacionais recentes associou o consumo regular de café com risco reduzido de hipertensão e doenças cardiovasculares, verificou-se que o efeito do consumo prolongado de café na PA é uma realidade (Robertson *et al.*, 1981), sendo que a cafeína é o principal composto agudo de aumento da PA encontrado no café, mas outros compostos presentes no café podem contrariar esses efeitos (Corti *et al.*, 2002).

Embora o efeito agudo da ingestão de cafeína seja aumentar a PA bloqueando os recetores de adenosina no tecido vascular, o que leva à vasoconstrição na macro e microcirculação (Robertson *et al.*, 1981), o café é uma mistura de compostos orgânicos complexos (i.e, minerais), fibras solúveis e compostos fenólicos com forte capacidade antioxidante, propriedades anti-inflamatórias e anti trombóticas. Além disso, tais associações heterogêneas podem ser atribuídas, pelo menos em parte, aos efeitos de modificação de predisposições genéticas divergentes (Miranda *et al.*, 2018).

#### **2.4.3 Efeito do café no potencial antioxidante**

O café é uma fonte de polifenóis e flavonoides, com capacidade antioxidante, ou seja, estão envolvidos na capacidade de eliminar espécies reativas de oxigénio (Martín e Ramos, 2016), com benefício na

saúde pois previnem doenças cardiovasculares, cancro, diabetes, obesidade e doenças neurodegenerativas e grande aceitação entre os consumidores (Martín e Ramos, 2017). Recentemente, Çelik e Gökmen (2018) observaram também, que o uso simultâneo de cacau e café pode resultar em antioxidantes ligados ao invés de antioxidantes livres, o que poderia resultar em um efeito antioxidante sinérgico melhorado. Apesar de todo esse potencial aliado a grande disponibilidade e reconhecimento de ser seguro para contato com alimentos, apenas alguns trabalhos têm aplicado café e cacau (Cacciotti *et al.*, 2018), para a produção de embalagens bioativas, e o efeito simultâneo de café e cacau nessas embalagens ainda é desconhecido (Veiga-Santos *et al.*, 2018).

Os ácidos clorogénicos e cafeico, os principais componentes fenólicos do café verde é que apresentam a capacidade antioxidante. Além disso, os fitoquímicos do grão de café verde apresentam uma tendência a reduzir a gordura visceral e também são adicionados aos cosméticos da pele para prevenir o envelhecimento da pele (Flanagan *et al.*, 2014). No entanto, nos grãos de café verde, a maioria dos compostos fenólicos está conjugada a açúcares como glicosídeos. É por isso, que compostos como os ácidos clorogénicos, ferúlico e cafeico são encontrados em forma de éster ligado à parede celular formando estruturas polissacarídicas altamente complexas (Ferreira *et al.*, 2013). Os compostos fenólicos em sua forma conjugada limitam sua biodisponibilidade por causa do alto peso molecular e devido a sua hidrofobicidade. Por outro lado, as formas livres têm maior disponibilidade dos grupos hidroxilo livres nos anéis fenólicos que são importantes para a estabilização da ressonância dos radicais livres (Ferreira *et al.*, 2013; Palmieri *et al.*, 2018).

No entanto, durante a torra, o perfil antioxidante do café altera-se devido à degradação de seus antioxidantes nativos e à formação de novos como as melanoidinas, bem como a formação de outros produtos advindos das reações de Maillard tornando-os mais biodisponíveis (Vignoli *et al.*, 2011). Todavia, o processo de fermentação, juntamente com a origem ou cultivar dos grãos de café, a mistura e a trituração também influenciam a composição antioxidante e as propriedades de saúde de uma bebida de café (Çelik e Gökmen, 2018)

## **2.5 Produção de café em sistemas agroflorestais**

O café é um exemplo importante de uma cultura tradicionalmente cultivada sob sombra de árvores nativas, com forte benefício para a conservação da biodiversidade e armazenamento de carbono (Perfecto *et al.*, 2014). Os benefícios da biodiversidade associados ao café sombreado têm sido bastante pesquisados. Há ampla evidência de que esses sistemas têm um potencial considerável para conservar a biodiversidade, já que sistemas agroflorestais complexos têm sido relatados como sustentadores de riqueza equivalente a 60% da floresta natural (Bhagwat *et al.*, 2008). No entanto, não há consenso sobre quão produtivos e lucrativos são esses sistemas em comparação com sistemas de manejo convencionais intensivos (Clough *et al.*, 2011). Alguns estudos afirmam que os sistemas agroflorestais representam uma forma de uso extensivo da terra e por isso não conseguem atender a crescente procura por alimentos, portanto, eles defendem a intensificação da agricultura para minimizar a conversão de habitats naturais (Chandler *et al.*, 2013). Outros estudos, no entanto, sugerem que os

sistemas de café e cacau podem ser projetados para otimizar a biodiversidade e os benefícios económicos sem adicionar pressão sobre os habitats naturais (Clough *et al.*, 2011; Jezeer *et al.*, 2017).

Algumas desvantagens das monoculturas de café incluem a diminuição da longevidade das plantas de café bem como o aumento da erosão do solo (Chaves *et al.*, 2012). Por isso uma aposta em sistemas agroflorestais aparece como uma solução. No entanto, exatamente quantas árvores de sombra deveriam estar numa plantação de café, e em que condições, ainda é uma questão para a qual a maioria dos produtores de café busca uma resposta. A literatura pesquisada concorda amplamente com o facto de que a cobertura completa do dossel diminui a produção de café e por isso não é desejável em produções comerciais, mas níveis de sombreamento baixo a moderado trazem melhores resultados do que nenhuma sombra (Meylan *et al.*, 2017).

As estimativas da cobertura de sombra ideal nas Américas variam entre 15% e 65% da cobertura do dossel, dependendo das condições ambientais locais, clima, manejo e espécies de árvores de sombra utilizadas (Soto-Pinto *et al.*, 2000). No entanto, efeitos complexos sobre potenciais ataques de pragas e doenças e outros factores devem ser considerados. Assim as práticas de cultivo e o manejo de pragas e doenças precisam ser primeiramente adaptados a essas características físicas (van Oijen *et al.*, 2010; Meylan *et al.*, 2017).

Em relação à qualidade, estudos mostram que a sombra afeta a composição bioquímica de grãos de café. Somporn *et al.* (2012), encontraram teores mais altos de ácidos clorogénicos no café cultivado na sombra do que em grãos de café cultivados ao sol, enquanto Vaast *et al.* (2006), observaram o oposto para este e outros compostos químicos, como por exemplo a sacarose e trigonelina. Esses relatórios contraditórios indicam que os efeitos da sombra na composição bioquímica e na qualidade dos grãos de café são altamente específicos do local ou dependem das condições de cultivo. Além disso, isso pode ser reforçado pelo processamento pós-colheita, conforme relatado por Worku *et al.* (2018).

## **2.6 Efeito da altitude na qualidade do café**

A composição bioquímica e atributos de qualidade dos grãos de café podem variar com características genéticas, condições edafoclimáticas, práticas agrícolas (Bertrand *et al.*, 2006; Leroy *et al.*, 2006; Vaast *et al.*, 2006) e técnicas de processamento pós-colheita (Worku *et al.*, 2018). Vários estudos relataram influências de altitude (Bertrand *et al.*, 2006) sobre a qualidade do café. Particularmente, a produção de café em elevadas altitudes e o uso de sistemas agroflorestais para o fornecimento de sombra em altitudes mais baixas são soluções encontradas para melhorar os atributos físicos e de qualidade do café nos climas quentes (Bertrand *et al.*, 2006; Worku *et al.*, 2018). Pois, temperaturas mais baixas têm sido sugeridas para prolongar o período de maturação dos frutos de café, o que, por sua vez, leva a uma maior acumulação de precursores de aromas (Vaast *et al.*, 2006).

Considerando a sensibilidade dos ecossistemas terrestres às mudanças climáticas, isso sugere que a altitude pode-se tornar mais importante para a produção de cafés especiais ou de alta qualidade no futuro em comparação com os dias de hoje. No entanto, isso pode depender da cultivar e do ambiente de crescimento (por exemplo, fertilidade do solo, temperatura, precipitação) (Bertrand *et al.*, 2006). Em

certas regiões, em altitudes mais baixas as condições estão abaixo do ideal para a produção de café, por isso, o aumento da sombra tem um efeito benéfico na qualidade (Worku *et al.*, 2018), enquanto em altitudes mais altas com baixas temperaturas e sem défices de nutrientes ou água, a sombra pode ter um efeito adverso na qualidade (Bosselmann *et al.*, 2009).

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

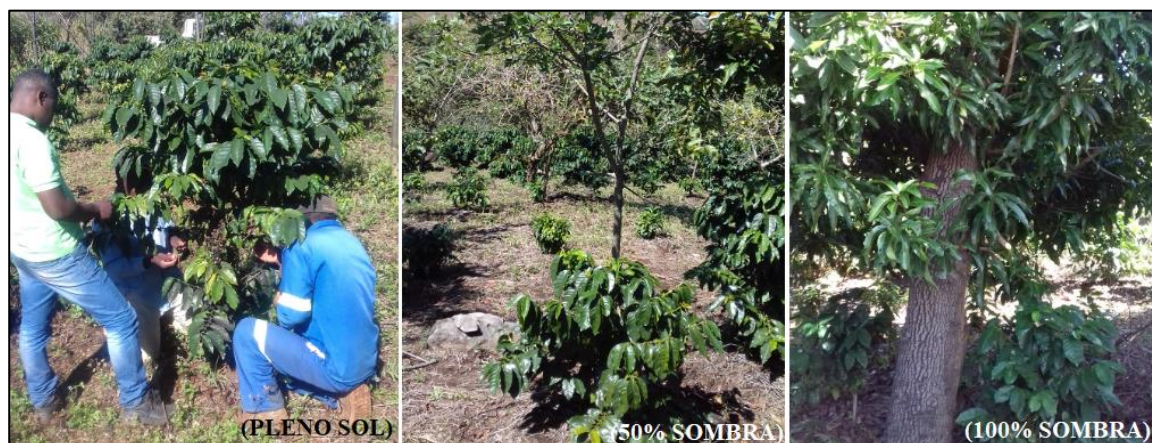
#### 3.1 Tratamentos e coleta de amostras

As amostras de café foram coletadas nos campos de café na Serra da Gorongosa na região central de Moçambique em Julho de 2018, em plantas de café do tipo Arábica (*Coffea arabica* L.) da cultivar Costa Rica com cerca de quatro anos. As amostras foram colhidas individualmente em 4 plantas escolhidas aleatoriamente em cada tratamento sendo que cada amostra foi constituída por cerca de 1 kg de café, e os frutos foram colhidos no estágio maduro (frutos vermelhos), escolhendo-se apenas os que tinham atingido a esta fase (Fig. 3.1).



**Figura 3.1:** Colheita de amostras nas parcelas (A) e café colhido na maturação ideal (B).

A colheita das amostras foi feita em plantas estabelecidas em diferentes altitudes e com diferentes níveis de sombreamento. No presente ensaio, o factor altitude tinha três níveis que são 650 m acima do nível médio das águas do mar (Lat 18° 30'52,992"S; Long 34° 3'5,4"E) [A1] , 825 m (Lat 18° 30'3,636"S; Long 34° 2'58,236.4"E) [A2] e 935 m (Lat 18° 28'54,012"S; Long 34° 2'42,936"E) [A3] e o factor sombreamento também tinha três diferentes níveis que são, pleno sol (0% de sombreamento) [PS], sombra moderada (50% de sombreamento) [SM] e sombra densa (100% de sombreamento) [SD], o que corresponde a um total de 9 tratamentos (Fig. 3.2; Anexo 1). O sombreamento do café era composto por diferentes plantas sendo as plantas das espécies *Albizia* spp. as mais predominantes.



**Figura 3.2:** Diferentes níveis de sombreamento no café da Serra da Gorongosa.

## 3.2 Preparação das amostras

### 3.2.1 Processamento do café verde

Após a colheita, efectuou-se o processamento das amostras de café por via húmida. Assim, estas foram despulpadas mecanicamente numa máquina vertical modelo DH 2.5 da Penagos (Colômbia) e em seguida foram colocados em plásticos com água e deixou-se a fermentar durante 48 h à temperatura ambiente. Em seguida, os grãos foram lavados com água corrente em sacos de ráfia e posto isto estes foram colocados a secar ao sol durante cerca de 10 dias numa plataforma feita de rede até atingir um nível de humidade de cerca de 11% como recomenda Dong *et al.* (2019) (Fig. 3.3). Em seguida, as amostras de café verde foram acondicionadas dentro de pequenos cartuchos de cartão e depois colocadas dentro de um plástico para se evitar a perda de qualidade.



**Figura 3.3:** Etapas do processamento por via húmida do café: despulpa mecânica (A), fermentação (B), lavagem (C) e secagem do café (D).

Para a realização das diferentes análises as amostras foram retiradas manualmente dos cartuchos de vários pontos cardeais, na posição superior e inferior assim como na periferia e no centro, obtendo-se assim várias amostras simples onde em seguida foram misturadas para obtenção de várias amostras compostas para as diferentes análises como recomendado por Mathur e Kongsdal (2003).

As diferentes análises foram feitas nos laboratórios do Departamento de Recursos Naturais, Ambiente e Território, do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa (ISA-UL), no Laboratório de Tecnologias Agroindustriais do Departamento de Ciências da Terra na Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa (FCT-UNL) e nos laboratórios do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) em Lisboa, Portugal.

### 3.2.2 Remoção do pergaminho e trituração dos grãos

Antes da realização de qualquer análise nas amostras de café, procedeu-se com a remoção manual da camada externa amarelada que envolve o grão de café, designada por pergaminho (Mirón-mérida *et al.*, 2019).

Importa salientar que todas as análises físicas e químicas foram realizadas utilizando grãos de café verde sem defeitos e isentos de materiais estranhos. Para tal, baseou-se no procedimento descrito na norma *International Organization for Standardization* (ISO 4119: 2005). Assim, lançou-se uma amostra de  $300 \pm 0,1$  g de café sobre uma superfície lisa, uniforme preta e os grãos foram examinados a luz diurna difusa, em seguida foram selecionados os materiais estranhos e os grãos defeituosos e separaram-se do resto da amostra.

Em seguida, as amostras de café verde foram trituradas em um triturador metálico até atingir a granulometria de 0,5 mm, e esta trituração foi feita usando um triturador de marca Disintegrator modelo MPD-102. No entanto, este procedimento foi feito tendo em conta a recomendação 15.009 da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1980) relativa ao café, que refere que a trituração deve ser executada até que a amostra passe totalmente pelo crivo nº 30 (600  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 3.4:** Grão de café verde sem pergaminho (a), o triturador metálico (b), café verde triturado com granulometria menor que 0.5 mm (c).

### 3.3 Análises físicas dos grãos de café

Estas análises consistiram na determinação de características físicas do café verde com impactos na qualidade do café.

#### 3.3.1 Determinação da massa de 100 grãos e da densidade aparente

A determinação da massa de 100 grãos baseou-se no procedimento descrito por Bicho *et al.* (2014). Assim, retirou-se das amostras 100 grãos de café verde sem defeitos e em seguida efetuou-se a respetiva pesagem numa balança com uma precisão de 0,001 g. O ensaio foi feito em triplicado sem a repetição dos grãos já selecionados.

A determinação da densidade aparente baseou-se no procedimento usado por Bicho *et al.* (2014), com as necessárias adaptações. Improvisou-se um recipiente, de volume conhecido, que se pesou com a aproximação de 0,001 g de precisão. Em seguida verteu-se o café verde para este recipiente, e, com uma espátula, rasou-se de uma só vez o excedente de grãos de café, evitando choques e vibrações e depois fez-se uma pesagem com a aproximação de 0,001 g. O ensaio foi feito em triplicado sem a repetição dos grãos já selecionados e o resultado foi expresso em  $\text{g mL}^{-1}$ .



**Figura 3.5:** Ensaio de determinação da massa de 100 grãos e da densidade aparente.

### 3.3.2 Análise granulométrica – Crivagem manual

A análise granulométrica foi realizada recorrendo-se a norma ISO 4150 (2011). Assim, usou-se um conjunto de crivos de malha metálica e com furos redondos por ordem decrescente de diâmetros nominal, crivo nº 20 ( $8,00 \pm 0,19$  mm), 19 ( $7,50 \pm 0,18$  mm), 18 ( $7,10 \pm 0,18$  mm), 17 ( $6,70 \pm 0,17$  mm), 16 ( $6,30 \pm 0,17$  mm), 15 ( $6,00 \pm 0,16$  mm), 14 ( $5,60 \pm 0,16$  mm), 13 ( $5,00 \pm 0,15$  mm), 12 ( $4,75 \pm 0,14$  mm) e 10 ( $4,00 \pm 0,13$ ).

Para a análise retirou-se 100 g de grãos de café verde de cada amostra e lançou-se para o crivo superior, colocando-se depois a tampa e foi-se agitando suavemente à mão durante 3 minutos efetuando-se um movimento vertical alternando com um ligeiro movimento basculante e no final da operação deu-se uma pequena pancada seca para fazer passar o grão que estava retido preste a cair. O grão que ficou preso nos furos de determinado crivo (de malha 20 até 10) bem como no recetáculo, considerou-se como retido por esse crivo. Por fim fez-se a pesagem com a precisão de 0,001 g do grão e o resultado foi expresso em % de massa, e corresponde à média de dois ensaios, resultante da utilização de tomas diferentes para cada análise.

Quando na primeira operação de crivagem não fossem escolhidos os crivos de menores furos (nº 10, 12, 13, 14 e 15), recolhia-se o grão que ficava retido no recetáculo e repetia-se tantas vezes quantas necessárias as operações descritas anteriormente, usando igualmente 3 ou 4 crivos, até que fossem utilizados os crivos de menor abertura ou até que não passasse nenhum grão através de um dos crivos de furos menores.

Além da percentagem da massa retida em cada crivo determinou-se também a partir dos dados, os parâmetros crivo mais frequente, crivo médio e a homogeneidade comercial de acordo com Esteves e Oliveira (1970). O crivo mais frequente é o crivo no qual ficou retido maior percentagem de café, durante o ensaio de calibração fracionada. O crivo médio corresponde à média ponderada entre as percentagens fracionadas e os números dos crivos utilizados no ensaio de calibração. E, a homogeneidade comercial é dada pela percentagem máxima de café retido em dois crivos de números consecutivos, durante o ensaio de calibração fracionada.



**Figura 3.6:** Crivagem manual e processo de pesagem na balança analítica.

### 3.3.3. Avaliação da cor

A cor dos grãos de café é um importante atributo para a classificação e a avaliação da aparência e da qualidade dos grãos antes e depois da torra (Franca e Oliveira, 2008; Cheng *et al.*, 2016). A avaliação da cor no café verde foi determinada pelo método CIElab usando colorímetro Minolta Chroma Meter CR-400 com Iluminante D<sub>65</sub>, que é equivalente à luz do dia do método denominado CIElab. Colocou-se o equipamento sobre uma cápsula que continha a amostra de café verde triturado e em seguida fez-se três disparos para cada amostra de a café (Ferreira *et al.*, 2018). Mas antes, o colorímetro foi calibrado com uma superfície branca padrão, para obter as coordenadas para cada iluminante: L\* = 97,27, a\* = - 0,01, b\* = 1.98, para o iluminador D<sub>65</sub> e L\* = 97.26, a\* = + 0.01, b\* = 1.94, para o iluminante C. O espaço de cor foi escolhido para obter os resultados expressos nas coordenadas de cromaticidade L\*, a\* e b\* das amostras para o iluminante selecionado (Bicho *et al.*, 2012b).

O espaço de cor tridimensional CIElab representa, na totalidade, as cores visíveis ao olho humano. Assim, a coordenada L\* (luminosidade) representa a leveza (contribuição de preto ou branco variando entre 0 e 100), e é uma coordenada perpendicular ao plano contendo as coordenadas de cromaticidade a\* e b\*. A coordenada de cromaticidade a\* e b\* representam respectivamente a contribuição de verde ou vermelho (positivo ou negativo respectivamente), e a contribuição de azul ou amarelo (negativo ou positivo respectivamente), sendo que +a\* indica o vermelho e -a\* indica o verde e +b\* indica o amarelo e -b\* indica o azul (Reddick *et al.*, 2009).

Para a determinação da saturação de cor (ou Cromo) utilizou-se a equação  $C^* = (a^2+b^2)^{1/2}$  e para se encontrar o valor do Ângulo de tonalidade (H\*) usou-se uma das equações seguintes:  $H^* = (\arctang(b/a)/6,2832) \times 360$  (se a>0 e b≥0), ou  $H^* = 180 + (\arctang(b/a)/6,2832) \times 360$  (se a<0 e b≥0 ou b<0), ou  $H^* = 360 + (\arctang(b/a)/6,2832) \times 360$  (se a>0 e b<0) (Bicho *et al.*, 2012). Os resultados correspondem a média de três leituras na mesma amostra (Bicho *et al.*, 2014).



**Figura 3.7:** Determinação da cor no café verde triturado usando um colorímetro Minolta Chroma Meter CR-400.

### **3.4 Análises químicas dos grãos de café**

As análises químicas para as amostras de cafés verdes consistiram na determinação dos teores de compostos bioquímicos com maior impacto na qualidade do café. Assim, os parâmetros analisados foram, cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos, ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico, pH, acidez titulável, fenóis totais, sólidos solúveis e minerais.

#### **3.4.1 Determinação da cafeína, trigonelina, ácidos clorogênicos e ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico**

A determinação destes compostos foi feita pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (High-Performance liquid chromatography-HPLC) baseando-se no procedimento proposto por Alves *et al.* (2006) e Ramalho *et al.* (2018) com as necessárias adaptações, quer para a extração, quer para a definição das condições cromatográficas.

##### **a) Método de extração**

Pesou-se  $0,2 \pm 0,001$  g de cada amostra de café verde, às quais se adicionou 30 mL de uma solução de acetonitrilo:água (5:95, v/v), em seguida procedeu-se com uma agitação mecânica durante 15 minutos a uma temperatura de 80 °C. Posto isto, colocou-se na centrífuga a cerca de 25 °C e 8000 g durante 5 minutos. O líquido sobrenadante foi decantado e efetuou-se uma filtração do extrato com uma membrana Millipore de 0,45 µm, sendo retirado do filtrado uma alíquota de 20 microlitros e este foi injetado diretamente no cromatógrafo.

##### **b) Condições operacionais do cromatógrafo**

Para a quantificação dos componentes usou-se um cromatógrafo, com um gradiente de eluição com um fluxo de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ . Assim, os extratos foram analisados durante 45 minutos com um HPLC Beckman System Gold (Estados Unidos) equipado com um DAD (modelo 168) e um módulo solvente

(modelo 126), usando coluna Spherisorb ODS2 (Waters, Estados Unidos), com uma mistura de ácido acético/água (5:95, v/v) como eluente A, e acetonitrilo como eluente B. Foi utilizado o seguinte programa de gradiente de eluição de B para A: 5% B durante 5 min, 5 a 13% B durante 5 min, 13% B durante 35 min, e retornou às condições iniciais após 1 min. A detecção foi feita em 272 nm para trigonelina e cafeína e a 320 nm para os ácidos cafeoilquínicos (3-CQA, 4-CQA e 5-CQA) e para os ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico.

### c) Isomerização dos ácidos clorogénicos (ácidos cafeoilquínicos)

Para o caso dos ácidos clorogénicos, determinou-se aqueles que são mais predominantes e importantes na qualidade final da bebida de café. Para a identificação dos CQAs utilizou-se o padrão 5-CQA baseando-se no procedimento descrito por Trugo e Macrae (1984). Assim, utilizou-se 200 mg do padrão (ácido 5-cafeoilquínico – 5-CQA), obtido comercialmente, e diluído em 20 mL de água destilada. Em seguida ajustou-se o pH da solução a 8, com uma solução de hidróxido de amónio (4 M). Em seguida, aqueceu-se a solução durante 30 min em banho de água fervente e depois de arrefecida procedeu-se ao acerto do pH a 2,5-3, com HCl 4 M e após a filtração efetuaram-se as respetivas injeções.

### d) Identificação dos picos cromatográficos e quantificação dos resultados

O padrão utilizado é o 5-CQA para identificar os isómeros 3-cafeoilquínico (3-CQA) e o 4-cafeoilquínico (4-CQA). De facto, após a isomerização do padrão, foi possível identificar os picos correspondentes a estes isómeros onde em seguida se verificaram os padrões.

Foi também elaborada uma curva de calibração, que foi obtida a partir do 5-CQA. A quantificação foi feita assumindo as áreas dos picos como referencial e comparando-as com a do padrão 5-CQA. Para quantificar cada um dos compostos, utilizou-se a equação usada proposta por Trugo e Macrae (1984):

$$c = \frac{FR \times \epsilon_1 \times Mr_2 \times A}{\epsilon_2 \times Mr_1}$$

Onde:

**c** - concentração do isómero a quantificar, em mg mL<sup>-1</sup>;

**Fr** - factor de resposta do padrão 5-CQA, em mg mL<sup>-1</sup> por unidade de área;

**ε<sub>1</sub>**- coeficiente de absorção molar do padrão 5-CQA, em dm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>;

**ε<sub>2</sub>**- coeficiente de absorção molar do isómero a quantificar, em dm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>;

**Mr<sub>2</sub>** - massa molar relativa do isómero em estudo (CQA = 354.31 g mol<sup>-1</sup>);

**Mr<sub>1</sub>** - massa molar do ácido 5-CQA (363,22) e

**A** - área do pico do isómero a quantificar.

Foram utilizados os coeficientes de absorção molar utilizados por Trugo e Macrae (1984), expressos em dm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, que são os seguintes: 3-CQA=18400, 4-CQA=18000, 5-CQA=19500. A posterior

obtenção dos cromatogramas fez-se a quantificação dos resultados, de acordo com os comprimentos de onda dos coeficientes de absorção molar de cada substância.

Para a quantificação dos outros compostos foram usadas as respectivas curvas-padrão sendo para a cafeína ( $0,125-1 \text{ mg mL}^{-1}$ ), trigonelina ( $0,0625-0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ), ácido cafeico e *p*-cumárico ( $0,050-0,400 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e ácido ferúlico ( $0,0475-0,380 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

Todas as extrações e as análises cromatográficas foram realizadas em duplicado, pelo que os resultados correspondem ao valor médio dos resultados obtidos nos dois ensaios.



**Figura 3.8:** Algumas etapas do procedimento de determinação da cafeína, trigonelina, ácidos clorogénicos e ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico.

### 3.4.2 pH

Para a determinação do pH baseou-se na metodologia proposta por AOAC (1980). Assim sendo, pesou-se 10 g de café verde moído de cada amostra, às quais foram adicionados 90 mL de água destilada fervente em um balão de Erlenmeyer. Após ligeira agitação, fez-se a filtração com filtro Whatman nº 4 e deixou-se arrefecer até cerca de 20°C. Em seguida determinou-se o pH num potenciômetro InoLab Level 2 calibrado para 20°C. Esta análise foi realizada em duplicado, sem repetição das réplicas e os resultados correspondem a média dos dois ensaios.

### 3.4.3 Acidez titulável

A sua determinação foi efetuada segundo a metodologia proposta por AOAC (1980). Assim, pesou-se 10 g de amostra de café verde e colocou-se em um balão Erlenmeyer, e adicionou-se 75 mL de álcool etílico a 80% (Merck) e deixou-se repousar durante 16 h, agitando-se ocasionalmente. Em seguida filtrou-se (filtro Whatman nº 4) e transferiu-se uma alíquota do filtrado (10 mL) para um copo, onde está foi diluída com cerca de 100 mL de água e titulada com NaOH 0,1 N (Merck), utilizando a fenolftaleína como indicador do ponto de viragem. Os resultados foram expressos em mL de NaOH 0,1 N  $\text{g}^{-1}$  de amostra de café e correspondem a média de duas replicações sem reposição.



**Figura 3.9:** Algumas etapas do procedimento de determinação da acidez titulável.

### 3.4.4 Fenóis totais

A determinação dos fenóis baseou-se no procedimento utilizado por Bonvehí e Coll (1997) com as necessárias adaptações. Este método baseia-se em reações de oxidação-redução entre o reagente e os compostos fenólicos presentes na amostra, originando-se compostos coloridos que são quantificados por espectrofotometria.

#### a) Método de extração

Pesou-se 1 g de café verde moído e adicionou-se 40 mL de metanol a 70% e depois efetuou-se a extração durante 45 min. a 0 °C com auxílio de agitação magnética. Depois, para obtenção do extrato bruto, procedeu-se com uma centrifugação a 3000g durante 10 min a 4 °C, e por fim fez-se a diluição até completar 50 mL com metanol a 70%.

#### b) Preparação das Soluções A e B

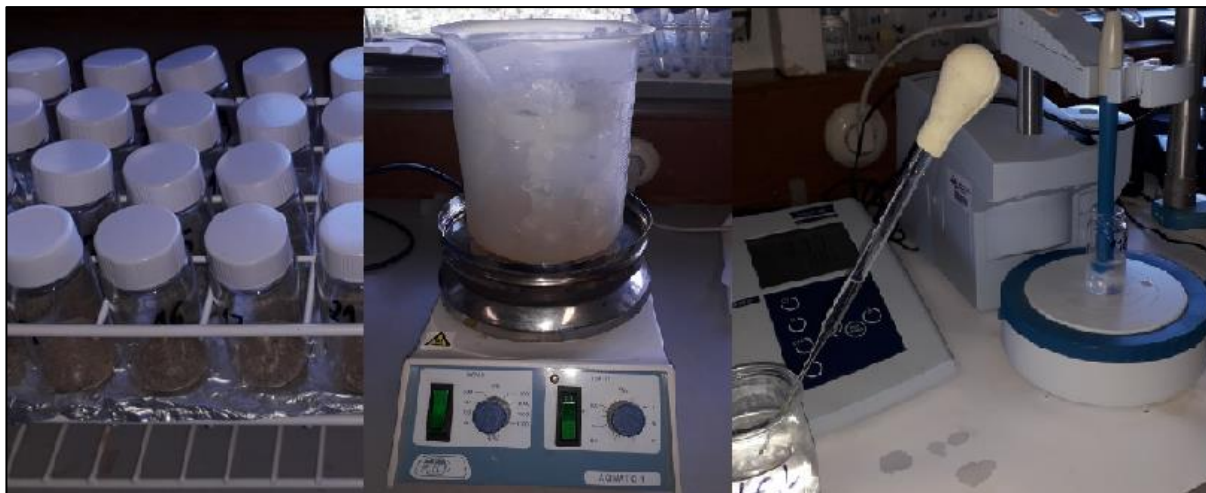
Para a preparação da **Solução A**, diluiu-se com água destilada 5 mL do extrato bruto até perfazer 50 mL. Posteriormente procedeu-se com a acidificação de 10 mL do extracto bruto até pH 3,5 com HCl (0,1 N). Em seguida, diluiu-se o extracto acidificado com 10 mL de água destilada e procedeu-se com uma agitação durante 10 min. com a adição de 2 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) de modo a clarificar a solução.

Por fim, filtrou-se a **solução A** com papel de filtro Whatman nº 541 e completou-se o volume de 25 mL com água destilada e assim obteve-se a **Solução B**.

#### c) Doseamento

Em cada tubo de ensaio colocou-se 1 mL da Solução A, B ou padrão e 5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (1:10). Após 3 minutos, adicionou-se 4 mL de solução aquosa de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% em m/v), para estabilizar a cor formada. Em seguida colocou-se os tubos de ensaios na estufa a 40 °C, cobertos por um pano, durante 20 minutos. Após este tempo, procedeu à leitura da

absorvância das soluções num espectrofotómetro SHIMADZU CPS-240A, UV-160A no comprimento de onda de 760 nm.



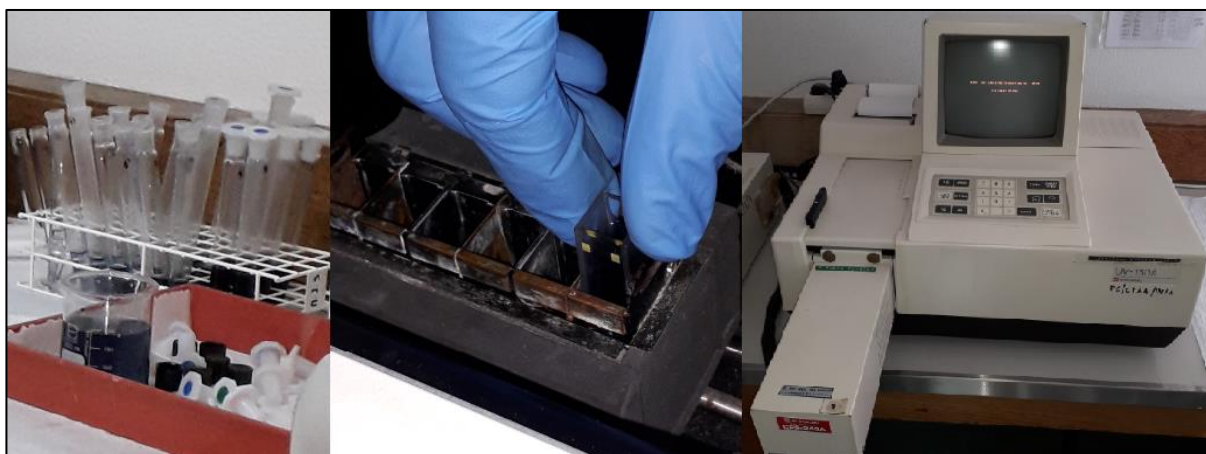
**Figura 3.10:** Algumas etapas do procedimento de extração dos fenóis.

#### **d) Obtenção da curva de calibração e quantificação dos fenóis totais**

A quantificação dos fenóis foi realizada com auxílio de uma curva-padrão que foi preparada a partir de uma solução de ácido gálico monohidratado. Esta foi efetuada para uma gama de concentrações entre 0 a 0,1 mg mL<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos foram expressos de acordo com a equação abaixo em mg de ácido gálico g<sup>-1</sup> de amostra de café e foram apresentados como a média de duas replicações sem reposição.

$$\text{Fenóis totais}_{(\text{mg } \acute{\text{a}}\text{c.gálico/ g amostra})} = A_{(\text{mg } \acute{\text{a}}\text{c.gálico/ g amostra})} - B_{(\text{mg } \acute{\text{a}}\text{c.gálico/ g amostra})}$$



**Figura 3.11:** Procedimentos para a obtenção da curva de calibração e quantificação dos fenóis totais.

#### **3.4.5 Sólidos solúveis**

A determinação do teor de sólidos solúveis (TSS) no café baseou-se no método AOAC 15.014 (AOAC, 1980).

Para esta análise, pesou-se  $10,0 \pm 0,1$  g do café moído (que passa no crivo nº 30), em seguida a amostra foi colocada num balão de Erlenmeyer de 500 mL, conjuntamente com uma vareta e com 200 mL de água. Este conjunto, depois de ter sido pesado, colocou-se numa placa de aquecimento, até atingir o ponto de ebulição, e sendo as condições mantidas durante cinco minutos. Após o arrefecimento até à temperatura ambiente, procedeu-se a uma nova pesagem para ajustamento da massa, através da adição de água.

Em seguida, fez-se uma filtração através de filtro Whatman nº 1, sendo que 25 mL do filtrado foram transferidos para uma cápsula tarada. A cápsula e o respetivo conteúdo foram então colocados em banho-maria até o resíduo secar, sendo depois introduzidas numa estufa a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ , e, após arrefecidos em exsicador, foram pesados a cada 30 min até a massa se manter constante.

Os resultados apresentados correspondem à média resultante de ensaios realizados em duplicado, sem repetição de réplicas para cada amostra de café e são expressos em percentagem de massa, de acordo com a seguinte fórmula: 
$$\text{TSS} = \frac{\text{Resíduo seco} \times 2}{10} \times 100.$$

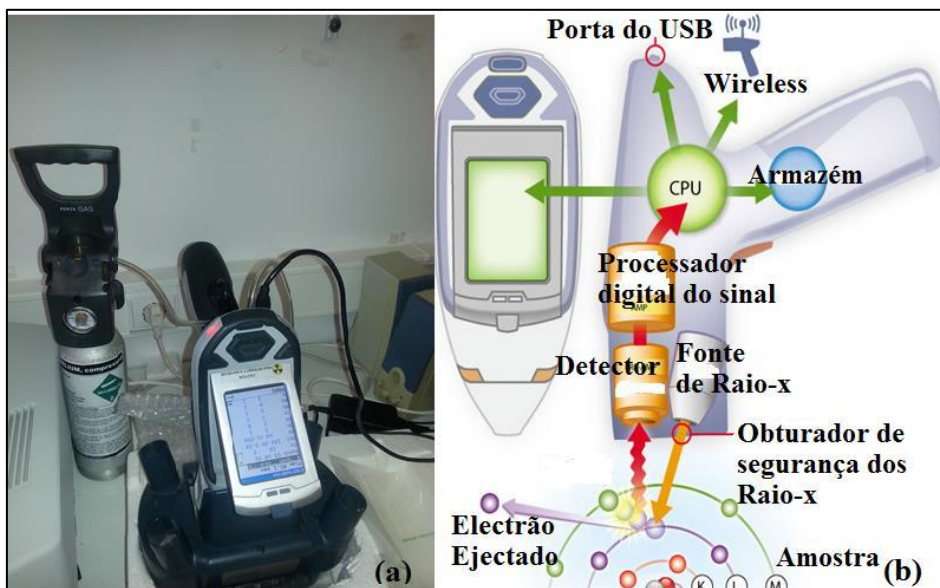


**Figura 3.12:** Etapas da determinação do teor de sólidos solúveis.

### 3.4.6 Minerais

A análise de todos os minerais foi feita por espectrometria de fluorescência de raio-X, segundo o modelo atômico de Bohr baseado no procedimento de Boldrin *et al.* (2012), através da deteção energética de eletrões, segundo o espectro eletromagnético na gama dos raios-X, com correspondência a uma base de dados, fornecida pelo equipamento. A análise foi efetuada através de um analisador portátil de raio-X (*Nit Thermo Scientific, modelo Xlt.*, EUA).

As leituras foram feitas em cuvetes com café verde triturado, e ocorreram após emissão de radiação durante 300 segundos, em atmosfera enriquecida em hélio. Para cada amostra foram efetuadas três leituras e os resultados da quantificação foram tratados com recurso ao *software NIT Data Transfer – XL 3t-36653*.



**Figura 3.13:** Analisador portátil de raio-X (a), imagem esquemática do funcionamento do equipamento (b).

**Fonte:** Adaptado de <http://hazmatmag.com> (03/03/2019) (Imagem b).

### 3.5 Análise de dados

#### 3.5.1 Estatística descritiva

Para a compilação e organização dos dados foi usado o programa Microsoft Excel 2016. O mesmo programa foi usado para o cálculo das médias aritméticas e dos respetivos erros padrão bem como para a elaboração dos diferentes gráficos para as diferentes análises físicas e químicas, entre os tratamentos com os diferentes níveis de sombreamento e altitude.

#### 3.5.2 Estatística inferencial

Os dados das parâmetros físico-químicas obtidos foram analisados estatisticamente com o auxílio do software estatístico PAST (versão 3.22, 2018), sendo que antes foram feitos os testes de especificação (Teste de Normalidade com base no teste de Shapiro Wilks e de Heteroscedasticidade com base no teste de Breusch - Pagan), onde para todas as análises foram feitos os testes de significância através da análise de variância (ANOVA) de factor duplo para se avaliar os efeitos simples bem como os combinados entre os diferentes níveis de altitude e sombreamento. Em seguida efetuou-se a comparação de médias dos tratamentos com base no Teste de Tukey para um grau de confiança de 95%. As diferenças significativas foram expressas recorrendo a diferentes letras do alfabeto maiúsculas e minúsculas.

## IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises físicas no café verde

#### 4.1.1 Massa de 100 grãos e densidade aparente

Os resultados mostraram que com o aumento da altitude, houve um aumento significativo da massa de 100 grãos do café verde, no entanto este factor não teve nenhum efeito significativo na densidade aparente. Para o caso do sombreamento este não influenciou significativamente tanto a massa de 100 grãos assim como a respetiva densidade aparente (Tabela 4.1). O aumento da altitude promoveu um progressivo aumento na massa de 100 grãos em todos os níveis de sombreamento, de tal forma que os valores da massa de 100 grãos de café verde encontrados na altitude de 935 m foram 38, 53 e 40% mais elevados relativamente aos pesos deste parâmetro na altitude mais baixa (650 m) para os níveis de sombreamento 0, 50 e 100% respectivamente. Verificou-se também que, tanto na massa de 100 grãos, assim como na densidade aparente não houve o efeito das interações entre os diferentes níveis de altitude e sombreamento.

**Tabela 4.1:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento na massa de 100 grãos e na densidade aparente dos grãos de café verde.

Parâmetro	Altitude (m)	Sombreamento (%)		
		0	50	100
Massa de 100 grãos (g)	650	13,86 ± 0,80 Aa	13,55 ± 0,69 Aa	15,60 ± 0,73 Aa
	825	15,34 ± 1,16 Aa	16,80 ± 0,84 Aa	14,07 ± 0,88 Aa
	935	19,12 ± 1,17 Ab	20,71 ± 0,69 Ab	21,82 ± 1,28 Ab
Densidade aparente (g mL <sup>-1</sup> )	650	0,577 ± 0,017 Aa	0,585 ± 0,003 Aa	0,573 ± 0,010 Aa
	825	0,599 ± 0,004 Aa	0,618 ± 0,014 Aa	0,595 ± 0,013 Aa
	935	0,600 ± 0,006 Aa	0,606 ± 0,06 Aa	0,599 ± 0,006 Aa

Para cada parâmetro os valores são representados pela média ± erro padrão (n=4). Médias seguidas com letras diferentes maiúsculas (A, B e C), representam diferenças significativas entre os níveis de sombreamento para a mesma altitude, e médias seguidas de letras diferentes minúsculas (a, b e c) representam diferenças significativas entre os níveis de altitude para o mesmo nível de sombreamento pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os atributos de qualidade físicos, químicos e organoléuticos do café são bastante influenciados pelos factores ambientais tais como, a altitude, o sombreamento, a temperatura diária, a quantidade e a distribuição da chuva entre outros (Bote e Vos, 2017), sendo a altitude (efeito positivo sobre a qualidade do café) e a precipitação (efeito negativo) os mais citados (Avelino *et al.*, 2005). Um destes atributos físicos é a massa dos grãos de café, que é um importante componente do rendimento, e os resultados obtidos nesta pesquisa em condições de campo mostraram que a massa de 100 grãos do café arábica foi influenciado pela altitude, uma vez que os valores deste parâmetro aumentaram à medida que a altitude aumentou, com aumentos de até 40% da altitude 650 m para 935 m em todos o níveis de sombreamento (0, 50 e 100%).

Vários estudos em café arábica mostraram um efeito similar, e em um destes estudos com o café, verificou-se um aumento da massa dos grãos em cerca de 39 a 55% com o aumento da altitude de 1500 a 2100 m (Bote e Vos, 2017), e o mesmo comportamento foi verificado ao se estudar o efeito da altitude na qualidade do café na Etiópia, onde se observou que houve um aumento da massa de 100 grãos de 14,1 para 16,9 g com o aumento da altitude dos intervalos de 1600-1680 m para 1950-2100 m, o que vem provar efetivamente que há um efeito positivo na massa dos grãos de café verde com o aumento da altitude, mesmo sendo que nos dois estudos citados, as altitudes e a diferença entre os níveis de altitude sejam diferentes com os da presente pesquisa (Tolessa *et al.*, 2016). O facto de haver um aumento da massa dos grãos com o aumento da altitude deve-se em geral a uma redução na temperatura do ambiente, e conseqüentemente a redução do stress induzido pelo calor nas plantas, aumentando assim a razão entre as folhas e os frutos e por conseguinte a taxa fotossintética líquida e também há um prolongamento do período de maturação dos frutos de café (DaMatta e Ramalho, 2006; Vaast *et al.*, 2006) e está situação traduz-se em mais oferta de carboidratos para o desenvolvimento e enchimento dos grãos.

A temperatura é um dos factores principais que condiciona a boa qualidade dos grãos e com o aumento da altitude o efeito nefasto deste elemento climático sobre as plantas de café tende a ser amenizado, principalmente nas zonas tropicais pois em altitudes mais baixas as temperaturas são elevadas em relação a altitudes mais altas e isto melhora significativamente a qualidade, a massa e o tamanho dos grãos de café. Este factor foi verificado pelo estudo de Bote e Vos (2017), onde se verificou que os cafés cultivados em altitudes mais altas (com temperatura média anual de 17,1° C) tiveram corpo, equilíbrio e sabor significativamente mais altos que os cafés cultivados em baixas altitudes (21,1° C). Este facto confere mais relevância aos resultados deste estudo, que revelaram um aumento da massa dos grãos com a altitude, pois a temperatura média anual no distrito de Gorongosa é de 22,9 ° C (MAE, 2014), e a faixa média anual óptima de temperatura para o café arábica situa-se entre 18-21 °C e acima desta o desenvolvimento e o amadurecimento dos frutos é acelerado, levando a perda da qualidade (DaMatta e Ramalho, 2006).

Em relação ao sombreamento, embora os valores da massa de 100 grãos encontrados no presente estudo, nos diferentes níveis de altitude e sombreamento são próximos aos encontrados por outros autores, cerca de 14-21 g em diferentes condições de sombreamento (Bicho *et al.*, 2014; Tolessa *et al.*, 2016), verificou-se que não houve nenhum efeito significativo deste factor na massa dos grãos verdes café em qualquer dos ambientes estudados. No entanto, vários estudos mostraram um aumento significativo da massa dos grãos quando se aumentou o sombreamento de 0 para 80% (Muschler, 2001; Geromel *et al.*, 2008), e também verificaram um aumento significativo do tamanho dos grãos de café comparando o café sem sombreamento e o café totalmente sombreado, embora este parâmetro não se tenha refletido diretamente no aumento da massa dos grãos de café neste último estudo. Outro estudo realizado por Tolessa *et al.*, (2016), obteve resultados similares ao se estudar a resposta do café à três níveis de sombreamento, sem sombra (0%), sombreamento médio (40-55%) e sombreamento denso (65-85%), e verificou-se que houve um aumento significativo da massa de 100 grãos de café verde nos dois níveis de sombreamento, tendo-se verificado aumentos de até 10% da

massa em relação ao tratamento de 0% de sombra, resultados estes similares aos encontrados por Bote e Jan (2016).

Os autores contrapõem com o facto de que, como os grãos de café são afetados pelo ambiente (Muschler, 2001), a sombra exerce um efeito sobre estes aumentando e uniformizando o tamanho e a massa dos grãos ao reduzir a incidência da radiação na canópia das plantas de café. E com isto, há redução na temperatura do ar e desaceleração da maturação do café (DaMatta e Ramalho, 2006). Além disso, como a iniciação floral é dependente da luz, menos flores se desenvolvem sob menor radiação solar, resultando em menor produtividade dos frutos. Ambos os factores permitem mais enchimento do grão devido à maior assimilação em menos grãos (Cheng *et al.*, 2016).

Por outra, o não aumento significativo da massa de 100 grãos do café com o sombreamento verificado no presente estudo, foi observado em outros estudos anteriormente realizados com o mesmo objetivo. Num desses estudos onde se procurou avaliar o efeito das condições ambientais na qualidade do café, ao se estudarem os efeitos da altitude, da aplicação de azoto e do sombreamento e as suas interações, concluiu-se que o sombreamento não tinha nenhum efeito significativo na massa dos grãos de café (Bote e Vos, 2017), e em outros estudos obteve-se resultados similares onde verificou-se que com o aumento do sombreamento de 0 para 45%, embora tenha havido um aumento positivo do tamanho dos grãos, verificou-se uma redução no rendimento em cerca de 18% (Vaast *et al.*, 2006), ou não houve efeito deste no rendimento (Meylan *et al.*, 2017). Estes autores contradizem aos estudos que defendem o aumento da qualidade física dos grãos com o aumento do sombreamento e corroboram com os resultados do presente trabalho, pois estes consideram que o sombreamento reduz a carga de frutos de café através de seus efeitos sobre a fisiologia do café, como entrenós mais longos, menos nós de frutificação e menor indução floral (Vaast *et al.*, 2006).

Existe uma percepção geral de que cafés produzidos em sistemas de sombreamento em comparação ao cultivo a céu aberto têm melhor qualidade, no entanto, esta proposição depende de muitos factores ambientais associados, pois Moreira *et al.* (2018), retrataram que podem subsistir efeitos adversos nestes sistemas sobre a produção de café associados à competição interespecífica por água, nutrientes e espaço, o que pode mascarar de alguma forma o efeito benéfico do sombreamento, por isso Bote e Vos (2017), defenderam que a qualidade química ou física dos grãos é promovida apenas por factores e condições que apoiam a oferta não limitativa dos recursos para o crescimento, por um período suficientemente longo de maturação. Mesmo com baixas temperaturas e sem défices de nutrientes ou de água, em altitudes elevadas com o sombreamento pode-se ter um efeito parcialmente adverso sobre cafés da espécie de *Coffea arabica* (Bosselmann *et al.*, 2009).

Assim, pode afirmar-se que factores e condições que promovem a melhor qualidade sensorial do café, também promovem o crescimento dos grãos. É por isso que parece haver alguma associação entre os atributos de qualidade sensorial em relação a massa e ao tamanho dos grãos de café, pois a ampla disponibilidade de recursos para o crescimento para melhorar a qualidade sensorial, também acaba promovendo o acúmulo de matéria seca nos grãos. Assim, a melhor qualidade sensorial dos grãos

maiores, explica o elevado preço destes em relação aos grãos mais pequenos mesmo sendo da mesma cultivar (Leroy *et al.*, 2006; Bote e Vos, 2017).

Várias propriedades físicas dos grãos de café são fundamentais para o dimensionamento e cálculo da capacidade de armazenamento, e para a concepção dos equipamentos e estruturas a serem utilizadas nas diversas operações unitárias de beneficiamento do café, e a densidade aparente é uma das mais importantes no que diz respeito a esses processos. Além disso, este e outros parâmetros físicos de qualidade do café permitem o entendimento dos fenómenos de transferência de calor e massa que frequentemente ocorrem nos processos de secagem, torra, arejamento, arrefecimento entre outros, o que permite uma melhor gestão dos processos e o aumento da sua eficiência (Botelho *et al.*, 2016).

Em relação a densidade aparente dos grãos, embora os valores encontrados nos diferentes níveis de altitude e sombreamento estejam próximos dos valores encontrados por outros autores, densidades aparentes de cerca de  $0,63 \text{ g mL}^{-1}$  (Bicho *et al.*, 2014) e entre  $0,65\text{-}0,69 \text{ g mL}^{-1}$  (Ramalho *et al.*, 2018), verificou-se que os níveis de altitude e sombreamento não tiveram nenhum efeito sobre este parâmetro físico de qualidade do café verde.

No entanto para a altitude, analisando-se individualmente, alguns estudos comprovaram que há efeitos significativos do aumento da altitude na densidade aparente dos grãos de café como descreve Nugroho *et al.* (2016), onde ao estudarem o efeito da altitude na qualidade física dos grãos de café em diferentes genótipos, observaram que genótipos cultivados em terras altas (1250 m acima do nível do mar), tiveram em média, maior densidade aparente dos grãos de café verde ( $0,72 \text{ g mL}^{-1}$ ) do que os genótipos das terras mais baixas (700 m), que tiveram médias de densidade aparente de cerca de  $0,65 \text{ g mL}^{-1}$  o que representa um aumento de cerca de 11% com o aumento da altitude. Entretanto, embora o café arábica seja nativo das florestas tropicais da Etiópia e esteja melhor aclimatado para altitudes entre 1600-2800 m, pois estas zonas são caracterizadas por temperaturas de cerca de  $20^\circ \text{ C}$  e pouca flutuação sazonal (DaMatta *et al.*, 2008; Patay *et al.*, 2016), cafés provenientes de Brasil produzidos em altitudes consideradas baixas para esta cultura (ca. 473 m), tiveram grãos com densidade de  $0,65 \text{ g mL}^{-1}$  (Dal Molin *et al.*, 2008), valores estes comparáveis com os encontrados por Nugroho *et al.* (2016) a 700 m ( $0,65 \text{ g mL}^{-1}$ ) e pouco abaixo dos encontrados no mesmo estudo a 1250 m ( $0,72 \text{ g mL}^{-1}$ ).

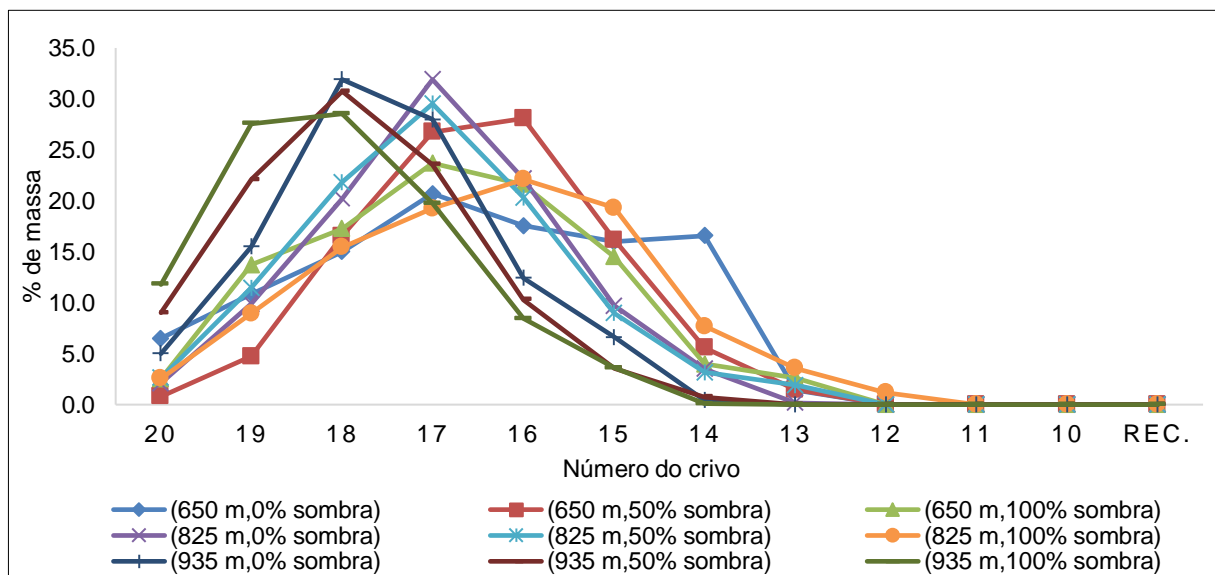
Isto confirma porquê não subsistiu o efeito da altitude na densidade dos grãos, pois a diferença máxima na altitude deste estudo é de 285 m e todas as altitudes situavam-se abaixo dos 1000 m o que pressupõe que apenas haveria diferenças caso a altitude fosse ainda maior e as diferenças entre os níveis estudados fossem mais acentuados, pois em altitudes mais altas há condições climáticas mais favoráveis para o desenvolvimento e o enchimento do grão com matéria seca devido ao prolongamento do período de maturação dos frutos de café (DaMatta e Ramalho, 2006; Vaast *et al.*, 2006).

Em relação ao sombreamento, neste estudo não se verificou o efeito deste factor na densidade aparente. Um estudo efetuado por Geromel *et al.* (2008), ao se avaliar o efeito do sombreamento na qualidade de café arábica mostrou os mesmos resultados, ou seja, não houve efeito do sombreamento

na densidade aparente dos grãos de café verde, e os valores obtidos de densidade eram de cerca de  $0,68 \text{ g mL}^{-1}$  próximos aos do presente estudo. Uma vez que a massa dos grãos é um dos factores que compõe a densidade aparente, pode-se então concluir que este resultado tem alguma proporcionalidade com a respectiva massa dos grãos de café, pois neste parâmetro (densidade aparente) não se verificou nenhum efeito significativo como na massa dos grãos devido ao sombreamento devido aos factores descritos anteriormente por vários estudos (Bote e Vos, 2017; Meylan *et al.*, 2017).

#### 4.1.2 Análise granulométrica - Crivagem manual

A análise da composição granulométrica dos cafés verdes em estudo com a calibração fracionada, permitiu verificar que o crivo mais frequente (com maior percentagem de grão retido) variou de acordo com a altitude, bem como com sombreamento (Figura 4.1; Tabela 4.2). Assim sendo, a altitude de 935 m foi a que apresentou o valor do crivo mais frequente maior entre todos os tratamentos, independentemente do seu nível de sombreamento, o que significa que nesta altitude os grãos têm predominantemente um tamanho maior que 7,50 mm (crivo 18). Em relação ao crivo médio a altitude de 935 m foi a que se destacou com os maiores valores em relação às outras altitudes em todos os níveis de sombreamento, sendo que foi no nível de sombreamento de 100% desta mesma altitude, que se verificou o valor de crivo médio mais elevado (18) em relação a todos os outros tratamentos. No caso da homogeneidade comercial, os valores variaram bastante em relação aos diferentes tratamentos, no entanto, importa destacar que o maior valor de homogeneidade comercial foi verificado na altitude de 935 m sem nenhum sombreamento e este foi de 59,89%.



**Figura 4.1:** Composição granulométrica dos cafés submetidos aos diferentes tratamentos de altitude e sombreamento, expressa em percentagem fracionada da massa de café retida em cada crivo.

**Tabela 4.2:** Crivo mais frequente, crivo médio e homogeneidade comercial dos cafés submetidos a diferentes níveis de altitude e sombreamento.

Parâmetro	Altitude (m)	Sombreamento (%)		
		0	50	100
<b>Crivo mais frequente</b>	<b>650</b>	17	16	17
	<b>825</b>	17	17	16
	<b>935</b>	18	18	18
<b>Crivo médio</b>	<b>650</b>	17,30	16,48	16,78
	<b>825</b>	16,88	16,93	16,38
	<b>935</b>	17,49	17,82	18,00
<b>Homogeneidade comercial (%)</b>	<b>650</b>	38,26	54,83	45,29
	<b>825</b>	54,07	51,34	41,42
	<b>935</b>	59,89	54,29	56,11

Dimensões dos crivos: 16 (6,30 ± 0,17 mm), 17 (6,70 ± 0,17 mm), 18 (7,50 ± 0,18 mm).

Em relação ao tamanho dos grãos de café, verificou-se que em todo o ensaio os crivos mais frequentes variaram de 16 até o máximo de 18, o que indica que a maior parte (percentagem acumulada de massa de grão retida em cada crivo maior até ao crivo mais frequente), cerca de 52 a 68 % dos grãos do café em todos os tratamentos tem um mínimo de 6,30 mm de diâmetro (Figura 4.1). sendo que no ensaio apenas dois tratamentos apresentaram esse tamanho, e os outros quatro apresentaram tamanhos iguais ou maiores a 6,70 mm de diâmetro e estes são considerados grãos grandes (Muschler, 2001; Vaast *et al.*, 2006). Estes resultados vão de acordo com os resultados encontrados anteriormente em outro estudo em grãos verdes de café arábica, onde se verificou que o valor do crivo mais frequente era 17 (Bicho *et al.*, 2014). Em relação a altitude, Bote e Vos (2017), verificaram que este factor tinha efeito na qualidade física do grão e teve um efeito significativo no tamanhos dos grãos de café, no entanto os valores do tamanho dos grãos variaram entre 6,19 mm (altitude de 1000-1550 m), 6,3 mm (1550-1750 m) e 6,39 mm (1750-2100 m) e comparando com os valores do presente estudo pode-se ver que a partir da altitude 1550 m em diante os valores se equiparam pois estes encontram-se entre as dimensões do crivo 16 e 17, pese embora o presente estudo tenha sido feito em altitudes muito mais baixas relativamente as dos estudos em comparação. É por isso, que se vem algumas diferenças do crivo médio no presente estudo, entretanto, numa amplitude de no máximo duas unidades de números de crivos.

Em relação ao crivo médio não se verificou grande variação nos diferentes níveis de sombreamento e altitude pois os valores variaram de 16,48 até 18, sendo que os maiores valores foram verificados na altitude de 935 m em todos os níveis de sombreamento. Estes valores são próximos aos encontrados no estudo de Bicho *et al.* (2014), onde se verificou que os grãos de café arábica verdes provenientes do Brasil tinham como valor de crivo médio 17,4. No entanto, este autor encontrou em seu estudo elevadas percentagens de homogeneidade comercial dos grãos, com valores de até 94,3% que são bastante altos relativamente aos encontrados no presente trabalho embora os grãos sejam grandes,

em que o valor de homogeneidade comercial mais elevado foi de 59.89% na altitude de 935 m e em pleno sol, verificando-se ainda valores mais baixos em outros tratamentos na ordem de 38,26%. Entretanto os valores elevados de homogeneidade comercial obtidos no estudo de Bicho *et al.* (2014), devem-se a calibração feita durante o beneficiamento, pois o estudo foi efectuado com cafés comerciais, diferente do presente estudo em que os cafés não sofreram nenhum tipo de calibração, e mesmo assim as homogeneidades comerciais encontradas no estudo de Bicho *et al.*, (2014) são consideradas baixas segundo algumas normas internacionais. Em cafés verdes comerciais esta calibração é bastante importante para manter a uniformidade dos grãos durante os diferentes processos de transformação e permitir a igual transferência de calor especialmente nos processos de secagem e torra (Botelho *et al.*, 2016).

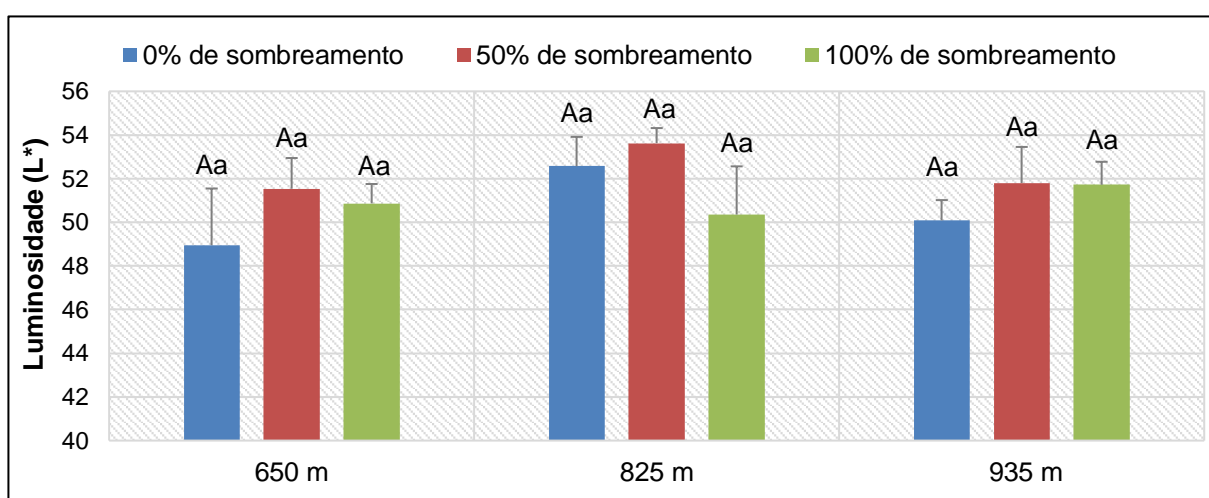
Em relação ao sombreamento, os parâmetros crivo frequente e médio não mostraram grande alteração dos valores com os diferentes níveis de sombreamento, no entanto, o parâmetro homogeneidade comercial teve alguma variação dos valores nos diferentes níveis de sombreamento para a mesma altitude. Todavia, estudos anteriores, verificaram um aumento significativo do tamanho dos grãos com o sombreamento (Muschler, 2001; Geromel *et al.*, 2008; Bosselmann *et al.*, 2009), sendo que os primeiros autores ao estudarem o efeito do sombreamento com *Erythrina poeppigiana* nativa, verificam que a percentagem de grãos grandes (crivo 17, com tamanho dos grãos > 6,7 mm) de duas cultivares de café (Catura e Catimor) aumentou de 49 e 43% para 69 e 72% respectivamente, quando a intensidade de sombra foi aumentada de 0 para mais de 80% durante todo o período de cultivo.

No entanto, em outro estudo similar verificou-se o aumento do tamanho dos grãos com o sombreamento apenas com a aplicação de azoto, pois em pleno sol não houve um aumento do tamanho dos grãos mesmo com a aplicação de azoto (Bote e Vos, 2017). Este facto segundo os autores, é principalmente devido aos efeitos distintos da radiação e do azoto no tamanho dos grãos de café, entretanto, pode também ser devido à não competição deste nutriente entre as árvores (em plantas sombreadas) e as plantas de café que supostamente provoca a redução do efeito positivo do sombreamento nos grãos devido à competição interespecífica por nutrientes, que também se pode verificar em outros factores como água, espaçamento, como foi visto por Muschler (2001). Mesmo com estes pressupostos, há relatos de que a competição interespecífica é reduzida devido ao efeito positivo das árvores no ciclo dos nutrientes e da água, assim o azoto neste caso funciona como um corretor do efeito positivo da sombra ao anular a pequena competição que possa existir (Bote e Vos, 2017).

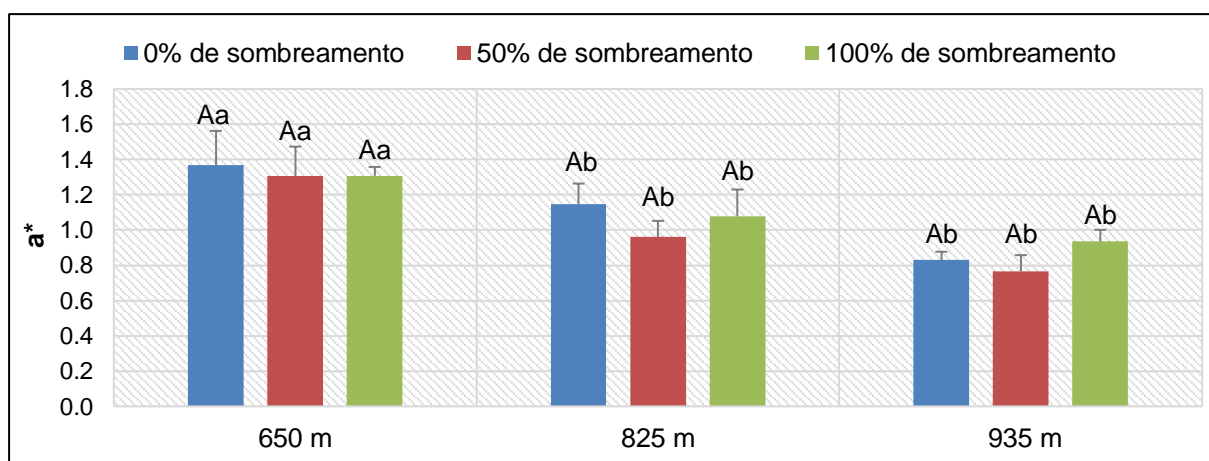
Embora haja várias explicações sobre os mecanismos por detrás do aumento da qualidade dos grãos com o sombreamento, pesquisas apontam para o efeito do regime de luz sobre a sacarose, e na redução glicose e frutose como os principais factores, pois a sacarose nas plantas é essencial no controlo dos mecanismos de translocação de fotoassimilados (Geromel *et al.*, 2008). Além disso, este açúcar é o principal composto dos grãos de café, sendo que a sua composição varia de 5 a 9,5% da matéria seca no café arábica.

### 4.1.3 Avaliação da cor

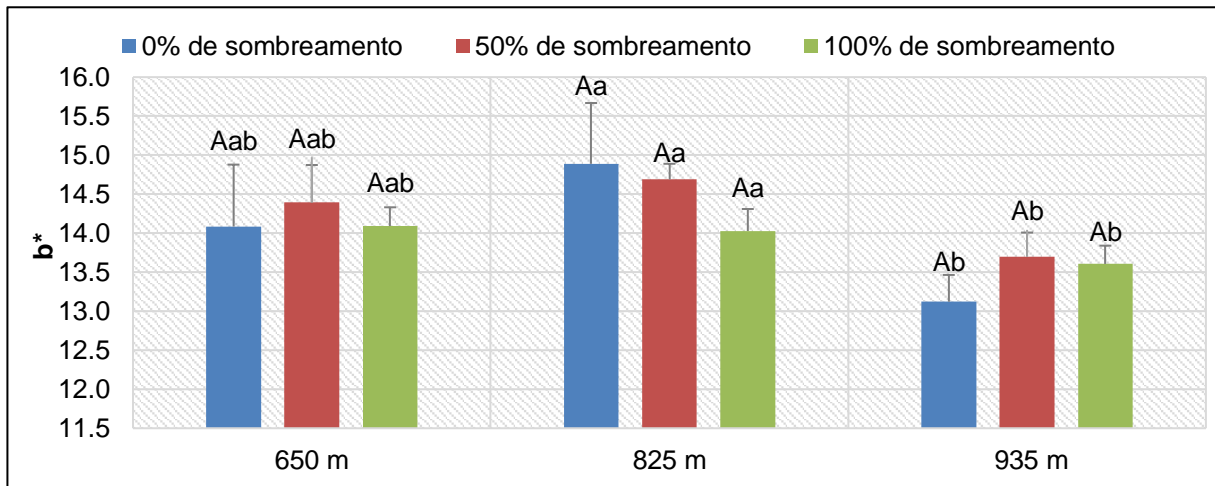
Em relação à cor dos grãos de café verde, verificou-se que apenas os parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$ , croma ( $c^*$ ) e ângulo de tonalidade ( $H^*$ ) foram significativamente afetados pela altitude (Figuras 4.3, 4.4, 4.5, 4.6). Nos parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$  e  $c^*$  houve um decréscimo dos valores da altitude 650 m para a altitude 935 m em todos os níveis de sombreamento, contrariamente aos valores de  $H^*$  que aumentaram significativamente com a altitude. Nos parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$  e  $c^*$ , o maior decréscimo foi verificado no parâmetro  $a^*$ , em que os valores destes na altitude 935 m representaram apenas 65%, 80% e 64% dos valores encontrados na altitude 650 m nos níveis de sombreamento 0, 50 e 100% respectivamente. Em relação ao sombreamento, este factor não teve efeito significativo em nenhum parâmetro da cor avaliado. Importa referir também que não se verificou nenhuma interação entre os diferentes níveis de altitude e sombreamento.



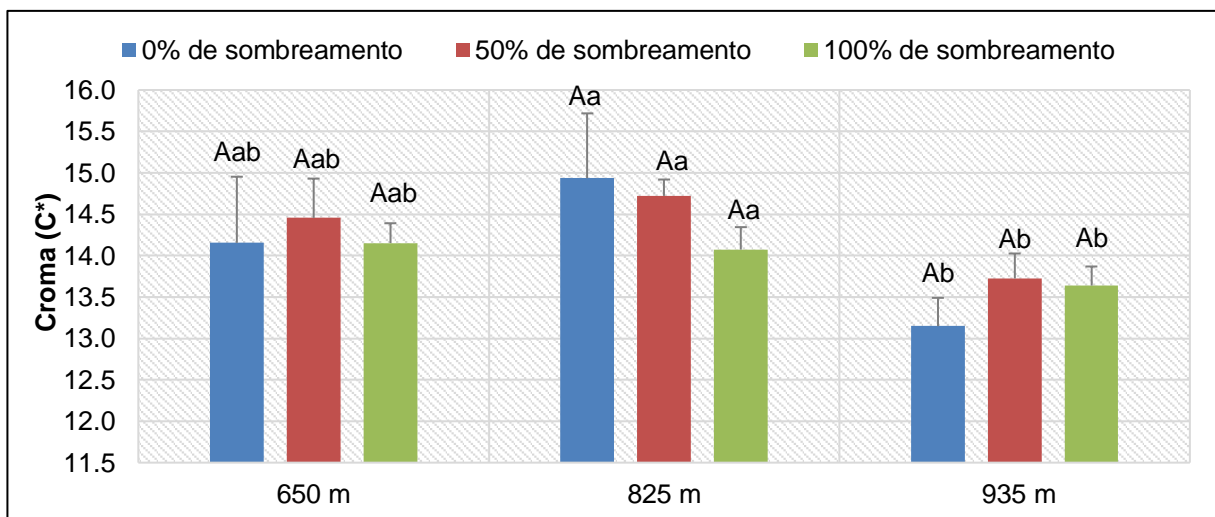
**Figura 4.2:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento na luminosidade ( $L^*$ ) dos grãos de café verde.



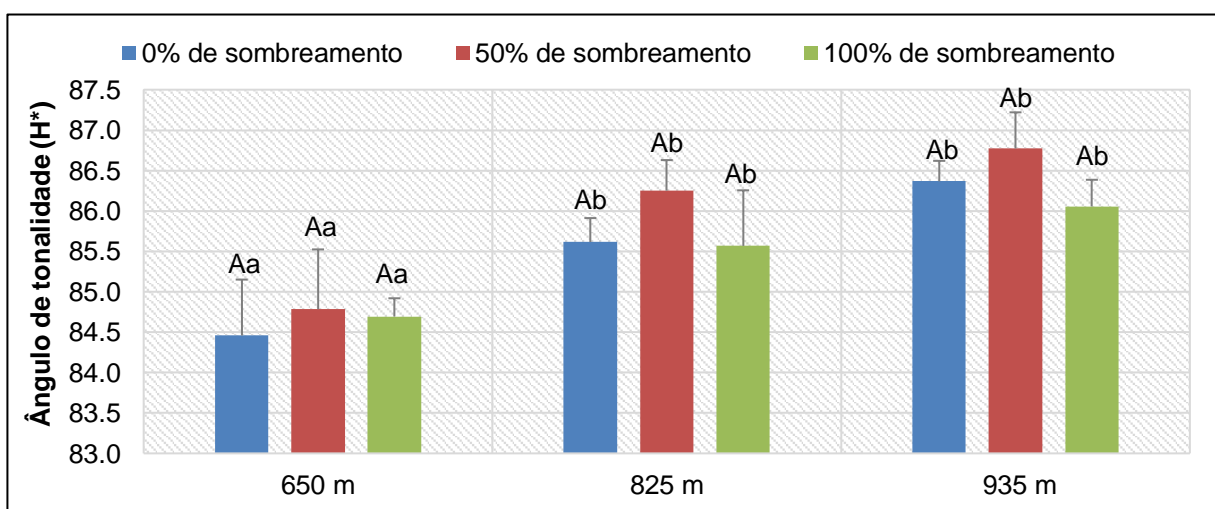
**Figura 4.3:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento do parâmetro  $a^*$  da cor dos grãos de café verde.



**Figura 4.4:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento do parâmetro  $b^*$  da cor nos grãos de café verde.



**Figura 4.5:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento na cromia ( $C^*$ ) dos grãos de café verde.



**Figura 4.6:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento no ângulo de tonalidade ( $H^*$ ) dos grãos de café verde.

Nos gráficos, para cada parâmetro os valores são representados pela média  $\pm$  erro padrão (n=4). Médias com letras diferentes maiúsculas (A, B e C), representam diferenças significativas entre os níveis de sombreamento para a mesma altitude, e médias com letras diferentes minúsculas (a, b e c) representam diferenças significativas entre os níveis de altitude para o mesmo nível de sombreamento pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cor dos grãos de café é bastante importante, pois pode-nos indicar aspetos como a frescura, o teor de humidade, o nível de defeitos bem como a homogeneidades dos grãos (Mendonça, Franca e Oliveira, 2009; Cheng *et al.*, 2016). É por isso que, tendo as características cromáticas dos grãos de café é possível prever a qualidade do produto final, devido à sua relação com a qualidade da bebida, o que permite fazer análises rápidas, fiáveis e não destrutivas, tornando-se então numa ferramenta adequada para a caracterização dos grãos de café verdes ou torrados (Bicho *et al.*, 2014; Ramalho *et al.*, 2018). Todavia, a cor assim como os outros atributos de qualidade do café é bastante afetado pelas condições ambientais, colheita e pelo processamento pós-colheita (Cheng *et al.*, 2016; Ramalho *et al.*, 2018; Worku *et al.*, 2018).

Os valores de luminosidade, croma e tonalidade são próximos aos encontrados no estudo de avaliação do efeito da temperatura e do CO<sub>2</sub> na qualidade dos grãos verdes de café arábica efetuado em condições de laboratório por Ramalho *et al.* (2018,) e são próximos também dos resultados de Bicho *et al.* (2014), que analisou a cor de cafés comerciais provenientes de Brasil. Os valores de a\* e b\* também são próximos aos valores encontrados nos cafés arábica comerciais provenientes do Brasil (Bicho *et al.*, 2014).

Estes resultados mostram que não houve efeito da altitude e do sombreamento na luminosidade dos cafés, e isso significa que não houve nenhum escurecimento que provocaria a redução da qualidade do café, uma vez que este facto está associado com a oxidação dos fenóis que alteram os percursos de sabor e aroma (Ramalho *et al.*, 2018). Em relação ao parâmetro a\* (contribuição do verde/vermelho), verificou-se uma diminuição progressiva significativa do valor deste à medida que se aumentou a altitude, o que traduz uma coloração mais esverdeada do café à medida que se aumenta a altitude com a perda do vermelho para o verde, o que implica que houve uma redução da qualidade na altitude mais baixa uma vez que para os cafés arábica da cor azul ao verde acinzentado são as cores mais desejáveis (Franca e Oliveira, 2008). Esta redução da cor verde do café e consequentemente da qualidade pode estar relacionada com os efeitos nefastos das altas temperaturas nas altitudes mais baixas (DaMatta e Ramalho, 2006; Vaast *et al.*, 2006).

Em relação ao parâmetro b\* (contribuição do azul/amarelo) e o croma, verificou-se um aumento significativo com o aumento da altitude de 650 para 825 m e uma redução na altitude de 935 m até valores mais baixos que as duas altitudes anteriores em todos os níveis de sombreamento. Em relação ao parâmetro b\*, a redução deste na altitude máxima significa um aumento da coloração mais azulada com o aumento da altitude, sendo a altitude mediana a que teve a coloração mais amarelada, assim este resultado implica melhor qualidade do café na altitude de 935 m (Franca e Oliveira, 2008). Em relação ao croma, o valor mais alto foi verificado na altitude média (825 m) e os valores de cromas mais elevados são associados a grãos não defeituosos (Mendonça *et al.*, 2009). No estudo efetuado por Ramalho *et al.* (2018) verificou-se que o valor de croma aumentou com temperaturas de 30-35 °C

relativamente às 25 °C o que pode justificar melhores valores de croma na altitude média devido a temperaturas relativamente mais altas que na altitude mais elevada. Além disso verificou-se um aumento progressivo da tonalidade com o aumento da altitude, e isto é relacionado também com a diminuição de defeitos nos grãos (Mendonça *et al.*, 2009), ou seja, melhor qualidade dos mesmos, e no estudo de Ramalho *et al.* (2018) verificou-se que o valor da tonalidade diminuía à medida que se aumentava a temperatura o que prova que o aumento da temperatura com a diminuição da altitude degrada significativamente a qualidade dos grãos de café.

Em relação ao sombreamento, embora não se tenha verificado o efeito deste factor em nenhum dos parâmetros cromáticos, a cor dos grãos verdes de café é para além dos factores espécie, condições e métodos de processamento, afetada pelas condições ambientais como a exposição das plantas à luz (Franca e Oliveira, 2008), temperatura e CO<sub>2</sub> (DaMatta e Ramalho, 2006; Ramalho *et al.*, 2018) entre outros. Assim, com as mudanças climáticas, o cultivo de café em céu aberto pode provocar a exposição das folhas a alta radiação e absorção de muito mais energia do que a utilizável pela fotossíntese, o que pode causar uma sobrecarga de energia e um superaquecimento que provocará a degradação do sistema fotossintético e conseqüentemente a redução da produtividade e da qualidade da produção (DaMatta e Ramalho, 2006).

É por isso, que se vem intensificando o uso de sistemas agroflorestais, ou seja, o sombreamento de café principalmente em zonas tropicais, pois é uma das possibilidades a implementar para reduzir os efeitos das mudanças climáticas, pois permitem a redução da radiação solar e da temperatura (Moreira *et al.*, 2018), resultando na redução do stress no café e melhorando as condições adversas do microclima e os desequilíbrios nutricionais, pois os sistemas de sombreamento do café podem amortecer as temperaturas extremas altas e baixas em até 5 °C (Beer *et al.*, 1998; Jha *et al.*, 2014).

## **4.2 Análises químicas no café verde**

### **4.2.1 Cafeína, trigonelina, ácidos clorogénicos e ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico**

Os resultados mostram que os teores de cafeína nos grãos verdes de café foram influenciados apenas pela altitude isoladamente. Para os casos dos teores de trigonelina e dos ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico, estes foram influenciados pela interação dos diferentes níveis de altitude e sombreamento, porém os ácidos clorogénicos (ACGs), mais concretamente os cafeoilquínicos (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA e os CQAs totais) não sofreram nenhum efeito de nenhum dos factores em estudo (Tabela 4.3). Os teores de cafeína aumentaram da altitude 650 para 935 m, com aumentos de cerca de 23, 30 e 25% para os níveis de sombreamento 0, 50 e 100% respectivamente.

Relativamente à trigonelina, verificou-se uma redução dos seus teores na altitude de 825 m sob sombreamento de 50 e 100%. Para o caso do ácido cafeico houve uma redução significativa à medida que a altitude ia aumentando, apenas nos níveis de sombreamento de 0 e 50%. Relativamente ao ácido *p*-cumárico este mostrou uma relação complexa entre os diferentes níveis de altitude e sombreamento, pois houve um aumento dos teores deste ácido apenas na altitude de 650 m, apenas dos níveis de sombreamento de 0 para 100%, e também se verificou uma redução significativa do ácido *p*-cumárico

da altitude 650 para 935 m no nível de sombreamento 100%. Relativamente ao ácido ferúlico este decresceu a sua acumulação nos grãos de café com o aumento da altitude apenas em plantas sob nenhum tipo de sombreamento.

**Tabela 4.3:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos teores da cafeína, trigonelina, ácidos clorogénicos e ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico.

Parâmetro	Altitude (m)	Sombreamento (%)		
		0	50	100
Cafeína (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	11,02 ± 0,48 Aa	10,73 ± 0,83 Aa	11,70 ± 2,00 Aa
	825	11,90 ± 0,54 Aa	11,10 ± 0,63 Aa	10,69 ± 0,78 Aa
	935	13,36 ± 1,05 Ab	13,93 ± 0,93 Ab	14,64 ± 0,44 Ab
Trigonelina (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	9,01 ± 0,12 Aa	8,54 ± 0,28 Aa	8,21 ± 0,52 Aa
	825	8,48 ± 0,21 Aa	6,10 ± 0,58 Bb	6,08 ± 0,05 Bb
	935	8,02 ± 0,80 Aa	8,30 ± 0,51 Aa	9,01 ± 0,45 Aa
3-CQA (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	3,15 ± 0,38 Aa	3,61 ± 0,24 Aa	3,41 ± 0,22 Aa
	825	3,81 ± 0,37 Aa	3,90 ± 0,17 Aa	2,94 ± 0,31 Aa
	935	4,71 ± 0,15 Aa	2,22 ± 0,11 Aa	4,04 ± 0,24 Aa
4-CQA (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	3,52 ± 0,13 Aa	4,05 ± 0,17 Aa	2,80 ± 0,19 Aa
	825	3,24 ± 0,12 Aa	3,11 ± 0,18 Aa	3,90 ± 0,27 Aa
	935	3,20 ± 0,16 Aa	4,27 ± 0,25 Aa	3,04 ± 0,10 Aa
5-CQA (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	39,5 ± 1,5 Aa	36,6 ± 1,0 Aa	41,6 ± 1,3 Aa
	825	29,0 ± 1,5 Aa	34,1 ± 1,9 Aa	29,8 ± 1,5 Aa
	935	36,3 ± 1,4 Aa	19,6 ± 1,7 Aa	24,9 ± 1,7 Aa
CQAs totais (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	46,1 ± 1,5 Aa	44,2 ± 1,8 Aa	47,9 ± 1,7 Aa
	825	36,1 ± 1,6 Aa	41,1 ± 1,9 Aa	36,7 ± 1,1 Aa
	935	44,2 ± 1,4 Aa	26,1 ± 1,6 Aa	32,0 ± 0,9 Aa
Ácido cafeico (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	0,225 ± 0,008 Aa	0,161 ± 0,002 ABa	0,066 ± 0,008 Ba
	825	0,009 ± 0,000 Ab	0,007 ± 0,001 Ab	0,102 ± 0,004 Aa
	935	0,008 ± 0,000 Ab	0,010 ± 0,001 Ab	0,030 ± 0,007 Aa
Ácido <i>p</i> -cumárico (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	0,465 ± 0,006 ABa	0,306 ± 0,001 Aa	0,952 ± 0,007 Ba
	825	0,557 ± 0,001 Aa	0,313 ± 0,005 Aa	0,394 ± 0,002 Aab
	935	0,117 ± 0,001 Aa	0,063 ± 0,008 Aa	0,050 ± 0,001 Ab
Ácido ferúlico (mg g <sup>-1</sup> PS)	650	0,758 ± 0,003 Aa	0,400 ± 0,005 Aa	0,104 ± 0,006 Aa
	825	0,104 ± 0,005 Aab	0,062 ± 0,009 Aa	0,558 ± 0,008 Aa

Para cada parâmetro os valores são representados pela média ± erro padrão (n=4). Médias seguidas com letras diferentes maiúsculas (A, B e C), representam diferenças significativas entre os níveis de sombreamento para a mesma altitude, e médias seguidas de letras diferentes minúsculas (a, b e c) representam diferenças significativas entre os níveis de altitude para o mesmo nível de sombreamento pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A composição bioquímica dos grãos de café verde é influenciada por vários factores como, a espécie, cultivar, e processamento pós-colheita e, claro, pelas condições de crescimento que podem ser influenciadas pela altitude e pelo sombreamento (Franca e Oliveira, 2008). O aroma e o sabor desejados na bebida são desenvolvidos durante o processo de torra, onde os grãos passam por uma serie de reações que provocam mudanças na sua composição química (Bicho *et al.*, 2012b). Assim, essas mudanças afectam os atributos sensoriais do produto final, por isso a composição bioquímica dos grãos de café verdes é bastante decisiva para a qualidade da bebida (Worku *et al.*, 2018).

A cafeína é um dos compostos mais importantes que contribuem para a qualidade do café. Quando consumida moderadamente pelos seres humanos aumenta a disponibilidade de energia, a concentração e o desempenho físico, no entanto, o consumo excessivo da cafeína pode resultar em doenças cardiovasculares, depressão e até mesmo dependência (Cheng *et al.*, 2016). Este composto é formado em frutos de café imaturos e acumula-se durante o desenvolvimento dos grãos, sendo que a sua acumulação e a concentração final nos grãos de café é bastante influenciada pelas condições ambientais (Perrois *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2016).

Os teores de cafeína nos grãos verdes de café arábica variam entre 6 e 18 mg g<sup>-1</sup> (Oestreich-Janzen, 2013; Bicho *et al.*, 2013; Severini *et al.*, 2017). Estes valores estão de acordo com os teores de cafeína encontrados nos grãos de café verde no presente estudo que variam entre 10,69 a 14,64 mg g<sup>-1</sup> e são próximos dos valores encontrados por Worku *et al.* (2018). Todavia, verificou-se uma variação significativa nos conteúdos de cafeína como resultado do efeito da altitude. Em relação a este factor, verificou-se que a cafeína aumentou a sua acumulação nos grãos de café à medida que se aumentava a altitude, e este comportamento foi relatado anteriormente no estudo efetuado por Avelino *et al.* (2005), em grãos de café arábica cv. Costa Rica onde se observou um aumento dos teores da cafeína em amostras obtidas em altitudes mais elevadas relativamente às amostras obtidas em altitudes mais baixas. Este efeito da altitude no aumento do teor de cafeína foi confirmado recentemente por Cheng *et al.* (2016).

Este aumento dos teores de cafeína com a altitude, está relacionado com a redução do stress provocado pelas altas temperaturas, principalmente em zonas tropicais como Moçambique, pois a elevada temperatura além de reduzir a produção e a translocação dos fotoassimilados para o grão devido ao mau funcionamento ou à destruição dos fotossistemas, reduz a qualidade dos mesmos o que provoca a redução da qualidade e quantidade dos vários compostos biossintetizados durante o enchimento e a maturação dos grãos de café (Vaast *et al.*, 2006; Cheng *et al.*, 2016). No entanto, há estudos que reportaram resultados contraditórios, onde se verificou que o aumento da altitude reduziu consideravelmente a acumulação de cafeína nos grãos de café. Em um destes estudos, Tolessa *et al.* (2016), verificaram que o aumento da altitude em 400 m reduziu o teor de cafeína em cerca de 10%, e

efeito similar da altitude foi verificado também no estudo de Worku *et al.* (2018), onde o conteúdo de cafeína decresceu em cerca de 0,12 mg g<sup>-1</sup> a cada aumento de 100 m na altitude. Os efeitos negativos da altitude observados para a cafeína nos estudos de Tolessa *et al.* (2016) e Worku *et al.* (2018) podem estar relacionados com as temperaturas médias locais de cada local de estudo que tem efeito direto nas taxas de biossíntese e biodegradação dos compostos durante o desenvolvimento dos grãos de café, especialmente na fase de maturação dos frutos, resultando assim na diferença dos teores de cafeína e outros compostos (Joët *et al.*, 2010).

Em relação ao sombreamento, embora no presente estudo não se tenha verificado nenhum efeito dos diferentes níveis deste factor no café, estudos anteriores reportaram haver um efeito positivo do sombreamento sobre os teores de cafeína nos grãos de café. Um destes resultados foi verificado no estudo realizado por Vaast *et al.* (2006), ao tentar perceber o efeito do sombreamento (em cerca de 45%) sobre os principais compostos de qualidade no café, e verificou-se aumentos significativos do teor de cafeína em dois anos consecutivos de estudo, de cerca de 13,9 para 14,45 mg g<sup>-1</sup>. Todavia, há estudos que mostram que quando se cultiva o café em regime sombreado, a data de colheita é um factor importante a observar, pois com um nível de sombreamento de cerca de 55% os grãos de café tinham conteúdos maiores de cafeína ao colher-se os grãos a 214 dias após a floração, e menores se a colheita for mais tardia, 281 dias após a floração (Geromel *et al.*, 2008). Este efeito é evidenciado pelo facto do sombreamento retardar a maturação dos frutos em cerca de um mês (Cheng *et al.*, 2016), devido à redução local da temperatura do ar pela sombra (DaMatta e Ramalho, 2006), mas também devido à redução dos compostos devido à sua remobilização na fase final do desenvolvimento dos grãos para a biossíntese de lenhina (Tolessa *et al.*, 2016; Worku *et al.*, 2018), o que provoca diferenças significativas na composição bioquímica dos grãos em diferentes estágios de desenvolvimento, e assim, é difícil inferir sobre a influência da sombra no teor da cafeína e outros compostos, ao colher-se grãos de café sombreados e não sombreados ao mesmo tempo. Embora não se tenha verificado no presente estudo a interação entre o sombreamento e a altitude nos teores de cafeína, o estudo de Tolessa *et al.* (2016) observou tal interação, o que pode estar relacionado com o poder interativo dos diferentes níveis de sombreamento e altitude na redução da temperatura do ar (DaMatta e Ramalho, 2006).

Em relação à trigonelina, os teores mais altos são encontrados em café verde, pois ocorre uma redução deste composto com a torra, sendo que este depois da cafeína é o segundo alcaloide mais abundante nos grãos de café. É um precursor de aroma e contribui para a formação de produtos saborosos desejáveis que são formados durante a torra (Sridevi e Giridhar, 2013; Cheng *et al.*, 2016). Os valores de trigonelina variam entre 3 a 13 mg g<sup>-1</sup> (Oestreich-Janzen, 2013; Cheng *et al.*, 2016), sendo igualmente reportados valores similares em estudos realizados por Vaast *et al.* (2006) e Sridevi e Giridhar (2013), todavia Ramalho *et al.* (2018) encontraram valores superiores ao dos autores anteriormente citados e aos do presente estudo com teores de trigonelina próximos a 18 mg g<sup>-1</sup> em estudo na estufa, em ambiente com temperaturas de 36-40 °C.

Embora os valores encontrados para a trigonelina neste estudo conferem com estudos anteriores, verificou-se que houve uma complexa relação do sombreamento e da altitude na influência da acumulação dos teores deste composto nos grãos verdes de café. Por via disso, verificou-se uma

redução da trigonelina na altitude de 825 m com níveis de sombreamento de 50 e 100% e os valores mais elevados foram verificados na mais baixa altitude sem sombreamento e na mais alta altitude com o máximo de sombreamento, estes resultados refletem a complexidade do efeito dos dois factores quando agem em simultâneo. Comparando o comportamento com o de outros estudos, estes mostraram a acumulação de teores menores de trigonelina em cafés cultivados sob sistema de cultivo sombreado (Vaast *et al*, 2006). Todavia estes resultados não são consistentes com o aumento do sombreamento, pois pesquisas recentes revelaram uma diminuição da trigonelina ao aumentar os níveis de sombreamento de 0 a 30%, 50% e, em seguida um aumento do composto com sombreamento de 70% e uma redução contínua a partir de níveis de sombreamento de 80% (Cheng *et al.*, 2016). Contrariamente ao sombreamento, no café arábica não se verificou nenhum efeito da altitude sobre os níveis de trigonelina (Sridevi e Giridhar, 2013).

Fora o facto de a trigonelina não mostrar uma tendência clara da sua acumulação nos grãos de café sob diferentes níveis de altitude e do sombreamento, este tem o mesmo comportamento com a cafeína no processo de biossíntese, pois acumula rapidamente nos primeiros estágios de desenvolvimento e a sua acumulação descrece significativamente nos estágios avançados (Cheng *et al.*, 2016). Este facto pode ter influenciado nos teores obtidos pois as amostras foram colhidas ao mesmo tempo nos diferentes tratamentos, pois o estudo de Ramalho *et al.* (2018) alerta que a temperatura afeta bastante o teor de trigonelina nos grãos verdes de café arábica.

Relativamente aos ACGs estudados no presente trabalho (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA), embora apresentem valores próximos aos reportados anteriormente por outros estudos (Joët *et al.*, 2010; Tolessa *et al.*, 2016; Ramalho *et al.*, 2018), estes não apresentaram nenhuma alteração no seu teor nos diferentes níveis de ambos os factores estudados. Todavia, estudos anteriores mostraram que há um efeito significativo da altitude sobre o nível de ACGs, sendo que no estudo de Worku *et al.* (2018), verificou-se que a cada aumento de 100 m na altitude, o teor de ACGs diminuiu *ca* 1,23 mg g<sup>-1</sup>, contrariando as conclusões de Cheng *et al.* (2016) que relataram um aumento dos ACGs com o aumento da altitude. Todavia, Tolessa *et al.* (2016), demonstraram que o teor dos ACGs totais não foi afetado pela altitude, nem mesmo pelo sombreamento com níveis de até 85% de sombreamento. Este último facto contraria as pesquisas realizadas por Cheng *et al.* (2016), onde observaram que a sombra influenciava significativamente na redução do teor dos ACGs.

Estes resultados mostram que a temperatura que é um dos principais elementos influenciados pela altitude e pelo sombreamento está positivamente correlacionada com o conteúdo ACGs (Joët *et al.*, 2010), pois, há uma redução do teor de ACGs nos grãos verdes de café com o aumento da temperatura (Ramalho *et al.*, 2018). Assim, outros factores podem ter influenciado as diferentes respostas nos diferentes estudos, pois a diferença também pode vir de diferenças genotípicas na adaptação da sombra, bem como das diferenças nos diferentes microclimas de cada ensaio. Por isso outros estudos são necessários bem como evidências transcrpcionais para se determinar a influência da sombra e da altitude na acumulação de ACGs (Joët *et al.*, 2010; Cheng *et al.*, 2016).

Em relação aos ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico, houve uma interação entre a altitude e o sombreamento na influência dos teores destes compostos nos grãos verdes do café, o que mostra a complexa relação entre os factores. Estes ácidos também foram influenciados no estudo do efeito de temperaturas e CO<sub>2</sub> efetuado por Ramalho *et al.* (2018), onde se verificaram interações dos dois factores nos teores de ácido *p*-cumárico e redução dos teores de ácido cafeico com o aumento da temperatura, o que supõe que o aumento da altitude e do sombreamento é inversamente proporcional à acumulação do ácido cafeico (DaMatta e Ramalho, 2006).

#### **4.2.2 pH, acidez titulável, fenóis totais e teor de sólidos solúveis**

Nestes parâmetros verificou-se a influência significativa dos dois factores em estudo, sendo em uns isoladamente e em outros na forma de interação (Tabela 4.4). No caso específico do pH e dos fenóis totais, estes foram significativamente afetados tanto pela altitude bem como pelo sombreamento isoladamente, sendo que para o pH para o factor altitude, os valores aumentaram significativamente da altitude 650 m para a altitude 825 m e declinaram não significativamente na altitude máxima em relação a altitude 825 m, e este comportamento verificou-se em todos os níveis de sombreamento. Para o caso do factor sombreamento, em todas altitudes verificou-se que houve uma redução significativa progressiva do pH, do nível de sombreamento 0% para 100%. Por sua vez, nos fenóis totais verificou-se um aumento significativo progressivo destes compostos com o aumento da altitude nos níveis de sombreamento 50 e 100%, sendo que os aumentos da altitude de 650 m para 935 m foram de 48 e 42% respectivamente. Em relação ao sombreamento, verificou-se também um aumento significativo progressivo nas altitudes 650 m e 935 m dos níveis de sombreamento 0 a 100%. Importa referir que o maior valor de fenóis totais foi verificado nos níveis máximos de ambos os factores em estudo e foi de 46,40 mg de AGE g<sup>-1</sup> de café verde.

Em relação à acidez titulável e ao teor de sólidos solúveis, estes foram influenciados pelo efeito sinérgico dos dois factores, ou seja, houve interação dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nestes parâmetros. No caso da acidez titulável, para o factor altitude, não se verificou nenhum efeito significativo deste na acidez titulável dos grãos de café verde em todos os níveis de sombreamento. Por sua vez, para o factor sombreamento, na altitude 650 m houve um aumento progressivo dos valores da acidez do nível de sombreamento 0% até 100%, no entanto nas altitudes 825 e 935 m não se verificaram efeitos significativos do sombreamento na acidez titulável.

Em relação ao teor de sólidos solúveis para o factor altitude verificou-se um efeito contraditório nos diferentes níveis de sombreamento, sendo que para os níveis de sombreamento 50 e 100% houve um aumento não progressivo do teor de sólidos solúveis da altitude 650 para 935 m, e no nível 0% houve uma redução não progressiva respectivamente. Para o factor sombreamento, apenas se verificaram efeitos significativos na altitude de 650 m com uma redução significativa do teor de sólidos solúveis do nível de sombreamento de 0% para 100%.

**Tabela 4.4:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos parâmetros pH, acidez titulável, fenóis totais e no teor de sólidos solúveis nos grãos de café verde.

Parâmetro	Altitude (m)	Sombreamento (%)		
		0	50	100
pH	650	6,02 ± 0,01 Aa	6,02 ± 0,02 Aa	5,97 ± 0,02 Ba
	825	6,17 ± 0,02 Ab	6,08 ± 0,02 Ab	6,03 ± 0,03 Bb
	935	6,07 ± 0,02 Ab	6,01 ± 0,01 Ab	6,01 ± 0,02 Bb
Acidez titulável (mL NaOH 0,1 N g <sup>-1</sup> PS)	650	3,13 ± 0,13 Aa	3,56 ± 0,31 ABa	4,56 ± 0,53 Ba
	825	3,81 ± 0,28 Aa	3,88 ± 0,51 Aa	3,19 ± 0,16 Aa
	935	3,38 ± 0,13 Aa	3,69 ± 0,34 Aa	3,38 ± 0,13 Aa
Fenóis totais (mg de ácido gálico equivalente g <sup>-1</sup> PS)	650	26,60 ± 0,20 Aa	28,56 ± 0,96 ABa	32,76 ± 1,02 Ba
	825	32,84 ± 0,36 Aa	33,84 ± 0,59 ABa	33,80 ± 0,38 Ba
	935	31,68 ± 0,69 Ab	42,40 ± 0,75 ABb	46,40 ± 0,69 Bb
Teor de sólidos solúveis (% PS)	650	33,40 ± 0,21 Aa	30,22 ± 0,27 Ba	30,38 ± 0,92 ABab
	825	28,19 ± 0,52 Ab	29,86 ± 0,19 Aa	28,46 ± 1,66 Aa
	935	30,02 ± 0,40 Ab	31,34 ± 0,26 Aa	31,61 ± 0,22 Ab

Para cada parâmetro os valores são representados pela média ± erro padrão (n=4). Médias seguidas com letras diferentes maiúsculas (A, B e C), representam diferenças significativas entre os níveis de sombreamento para a mesma altitude, e médias seguidas de letras diferentes minúsculas (a, b e c) representam diferenças significativas entre os níveis de altitude para o mesmo nível de sombreamento pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No presente estudo, o pH, independentemente dos tratamentos aplicados, apresentou valores que variaram entre 5,97 e 6,17, que são próximos dos reportados em grãos verdes de café arábica, por Ramalaskshmi *et al.* (2007) e Lowor *et al.* (2007) que são respectivamente 5,80 e 6,02-6,14. No entanto, embora se tenha verificado que a altitude influenciou o pH dos grãos verdes de café, sendo que os maiores valores foram verificados na altitude de 825 m em todos os níveis de sombreamento, em outro estudo similar as conclusões foram diferentes, pois ao analisar-se o efeito de três níveis de altitude (1300-1400, 1400-1600, 1600-1800 m acima do nível do mar) na Colômbia, não se verificou nenhum efeito das variações da altitude no pH (5,2-5,3) dos grãos de café (Bolívar *et al.*, 2017), mas verificou-se que os valores foram relativamente baixos comparativamente aos do presente estudo. Isto pode estar relacionado com o facto de o café estar adaptado para altitudes que variam de 1600-2800 m onde há pouca flutuação da sazonalidade da temperatura do ar (DaMatta e Ramalho, 2006) relativamente a zonas mais baixas, como as do presente estudo onde uma pequena variação da altitude, provoca modificações nos diferentes elementos do clima, principalmente a temperatura.

Um estudo que procurou avaliar o efeito simultâneo da altitude e do sombreamento no café na Etiópia, mostrou que o pH teve uma redução significativa com o aumento da altitude apenas em cafés que foram cultivados com sombreamento, o que indica que houve uma interação entre os vários factores (Worku *et al.*, 2018). No entanto, neste estudo, há uma similaridade (embora não tenha havido interação

entre os factores) em relação ao sombreamento, pois verificou-se uma redução do pH dos grãos verdes de café com o aumento do sombreamento em todas as altitudes, sendo que em relação à altitude, foi na altitude de 650 m onde se verificaram os menores valores de pH. Todavia, embora o pH dos grãos do café verde esteja de alguma forma relacionada com a acidez da bebida que é um importante parâmetro de qualidade no café, a acidez dos grãos é vista como a que mais se relaciona com a acidez da bebida (Basavaraj *et al.*, 2014; Bote e vos, 2017; Worku *et al.*, 2018).

Em relação à acidez titulável, os valores encontrados foram relativamente mais altos que os relatados no café arábica por Ferreira *et al.* (2013), que variaram de 1,85 a 1,90 mL de NaOH 0,1 N g<sup>-1</sup>, entretanto em condições de estufa, verificou-se no estudo de Ramalho *et al.* (2018), que os valores foram próximos aos do presente estudo, pois variaram de 1,95 a 2,62 mL de NaOH 0,1 N g<sup>-1</sup> e em condições do estudo de campo de Silva *et al.* (2004) encontraram valores similares (1,85-2,54 mL de NaOH 0,1 N g<sup>-1</sup>) e verificaram ainda que houve diferenças significativas nos valores da acidez titulável em cafés produzidos em dois níveis diferentes de altitudes (720-920 e 920-1120 m) tendo-se verificado o aumento da acidez titulável com a altitude, no entanto no presente estudo não se observaram alterações significativas dos valores de acidez com o aumento da altitude em nenhum nível de sombreamento.

Em relação ao sombreamento, verificou-se uma interação deste com a altitude na influência da acidez, pois, apenas se verificou um aumento significativo deste na altitude de 650 m, o que pode indicar que o sombreamento permitiu o aumento da acidez, devido à redução da temperatura com o sombreamento (DaMatta e Ramalho, 2006), pois verificou-se no estudo de Silva *et al.* (2004) um aumento da acidez com a altitude (o que indica redução da temperatura). No entanto, o estudo feito por Ramalho *et al.*, (2018) em condições de estufa, mostrou que a acidez aumentava com a temperatura, no entanto este trabalho pode não ter aplicabilidade para comparação com o estudos em campo, pois neste ambiente verificam-se grandes variações sazonais da temperatura, radiação e ventos ao longo da época de cultivo o que se intensifica a baixas altitudes que foi onde se verificou o efeito positivo do sombreamento (DaMatta e Ramalho, 2006).

Embora tenha havido este aumento da acidez com o sombreamento na altitude de 650 m, a acidez titulável pode variar de acordo com os níveis de fermentação que ocorrem nos grãos, bem como os estágios de maturação (Ferreira *et al.*, 2013), sendo os grãos com maior acidez associados aos grãos verdes (Franca e Oliveira, 2008). Todavia, a acidez contribui para intensificação do sabor do café, aumenta a percepção da doçura, sendo desta forma bastante importante na percepção organolética da bebida (Borém *et al.*, 2013).

Os compostos fenólicos por serem a maior fonte de atividade antioxidante no café e serem considerados como potenciais protetores contra doenças humanas crônicas e degenerativas como o cancro e doenças cardiovasculares, estes têm merecido bastante atenção nos últimos dias (Somporn *et al.*, 2012; Franca e Oliveira, 2008) e são encontrados no café verde principalmente na forma de ACGs (Esquivel e Jiménez, 2012). Neste estudo, os fenóis totais aumentaram com o aumento da altitude, bem como com o aumento do sombreamento, sendo que estes valores foram relativamente mais baixos que

os encontrados no estudo de Taveira *et al.* (2015), que variavam entre 59,7 a 62,3 mgAGE g<sup>-1</sup> sendo que o tratamento com os níveis mais altos de altitude e sombreamento teve valores de compostos fenólicos totais próximos aos encontrados em grãos de café verde por Ramalho *et al.* (2018) em condições de estufa, onde estes variaram de 35,8 a 49,4 mgAGE g<sup>-1</sup>.

Para o caso da altitude, vários autores revelaram o aumento dos compostos fenólicos com o aumento da altitude, sendo que Bertrand *et al.* (2006), verificaram especificamente nos ACGs um aumento progressivo significativo destes compostos de 76,1 para 82,4 mg g<sup>-1</sup> com o aumento da altitude de 900 para 1450 m. Os autores atribuem este aumento ao efeito da temperatura, pois este é particularmente importante no ciclo fenológico do café, particularmente no desenvolvimento e amadurecimento dos frutos. Assim, sabendo-se que a elevação tem uma influência óbvia na temperatura e nos climas tropicais da América Central a cada aumento de 100 m na altitude, resulta na redução da temperatura média diária em 0,8-1 °C, é óbvio que esta influencia no aumento dos compostos fenólicos, pois verificou-se que com a diminuição da temperatura de 30-35 °C para 25 °C houve um aumento significativo dos compostos fenólicos (Bertrand *et al.*, 2006; Ramalho *et al.*, 2018). Estes resultados anteriormente encontrados vão de acordo com os do presente estudo, onde se verificou também que houve um aumento progressivo dos fenóis totais com o aumento da altitude de 650 para 825 e 935 m com maior destaque em cafés com sombreamento.

Todavia, estes resultados contradizem os obtidos em estudos anteriores efetuados por Tolessa *et al.* (2016) em vários níveis de elevação (menores que 1550 m, de 1550 -1750 m e maiores que 1750 m com sombreamento), e por Work *et al.* (2018) (em altitudes entre 1200 a 1800 m), onde se verificou que houve uma redução dos compostos fenólicos com o aumento da altitude, no entanto isto pode ter acontecido, pois em altas altitudes as temperaturas são mais baixas que as ótimas, principalmente quando aliadas ao sombreamento das árvores o que pode resultar na redução da qualidade dos grãos de café (Bosselmann *et al.*, 2009), pois nestas condições há falta de aquecimento e a radiação pode ser insuficiente para a realização dos vários processos químicos e fisiológicos nos órgãos metabólicos das plantas, sabendo-se que a temperatura ideal para o cultivo de café se encontra entre 18 a 21 °C (DaMatta e Ramalho, 2006).

Em relação ao efeito do sombreamento, verificou-se um aumento dos compostos fenólicos com o sombreamento sendo que o maior aumento se verificou na altitude de 935 m, onde se pode ver que o conteúdo destes no tratamento controlo é apenas de ca 68% do que os encontrados nas plantas com sombreamento a 100%. No entanto o estudo feito por Somporn *et al.* (2011), mostrou um efeito significativo do sombreamento no teor total dos fenóis, mas não se verificou um aumento linear na concentração total dos compostos com o aumento do sombreamento. O efeito significativo do sombreamento foi reportado também por Tolessa *et al.* (2016), todavia o efeito positivo do aumento do sombreamento apenas se verificou na interação com altas altitudes, pois as plantas deste tratamento se encontravam sob temperaturas ideais para o seu crescimento e desenvolvimento. O mesmo foi visto neste estudo, pois, embora não tenha havido interação entre os dois factores, verificou-se maior concentração de compostos fenólicos no tratamento de 100% de sombra e na altitude mais elevada (935 m).

Este aumento dos compostos fenólicos que se traduz na boa capacidade antioxidante do café, revela o poder da altitude e do sombreamento no aumento da qualidade do café, devido à redução da temperatura no ambiente. Esta redução é responsável pela diminuição do stress induzido pelo calor nas plantas e aumenta a proporção folha / fruto e a taxa fotossintética líquida que prolonga a maturação e melhora a translocação dos hidratos de carbono para o grão, bem como a sua qualidade (DaMatta e Ramalho, 2006; Vaast *et al.*, 2006; Worku *et al.*, 2018).

No caso do teor total de sólidos solúveis verificou-se uma interação significativa entre os factores estudados, o que significa uma complexa relação entre eles. O elevado teor de sólidos solúveis é uma das características do café arábica (Arauz *et al.*, 2017), e estes são extraídos do café após a torra para a produção de cafés instantâneos (Mussatto *et al.*, 2011). Em relação aos valores encontrados dos sólidos solúveis estes são próximos aos reportados anteriormente no estudo em café arábica de Ramalaskshmi *et al.* (2007), onde estes se encontravam em torno de 31,13% e por Ferreira *et al.* (2013) entre 31 e 33%, e recentemente foram reportados por Ramalho *et al.* (2018) com valores entre 33 e 38,4% em cultivo em condições de estufa.

A interação mostra que o teor de sólidos solúveis varia com o efeito dos diferentes níveis de altitude em relação aos diferentes níveis de sombreamento, no entanto o maior valor foi observado nos níveis mais baixos de altitude e de sombreamento, (650 m, 0%). É por isso que o estudo de Ramalho *et al.* (2018) mostrou um aumento significativo no teor de sólidos solúveis com o aumento da temperatura de 25 para 30-35 °C , e isto indica que a temperatura favorece o incremento do teor de sólidos solúveis, o que se verifica da altitude 825 para 650 m, onde se pode ver um aumento dos sólidos solúveis com a redução da altitude em todos níveis de sombreamento, mas com mais destaque para as plantas cultivadas em pleno sol.

Cafés com alto teor de sólidos solúveis favorecem a produção de bebidas de qualidade superior como foi observado por Farah *et al.* (2006). Todavia, com o efeito adverso do sombreamento em relação ao teor de sólidos solúveis pode-se concluir que este tem um impacto negativo na qualidade da bebida. Entretanto, este facto não chega a ser um problema, pois os grãos de café arábica são mais usados para a produção de cafés filtrados e os de café robusta por possuírem o maior teor de sólidos solúveis e apresentar maior rendimento de torra é que são empregues como componente essencial dos cafés solúveis (instantâneos) (DaMatta *et al.*, 2003; Sridevi e Giridhar, 2013).

#### **4.2.3 Minerais**

##### **a) Macronutrientes**

As concentrações dos macronutrientes Ca, P, S, Si e Cl, foram significativamente influenciadas pela altitude, todavia, apenas as concentrações do macronutriente Si é que foram significativamente afetados pelos diferentes níveis de sombreamento, e as concentrações do K não variaram com o efeito dos diferentes níveis de altitude e sombreamento (Tabela 4.5).

Para o Ca, verificou-se que a medida que se ia aumentando a altitude as concentrações deste macronutriente mineral iam decrescendo progressivamente em todos os níveis de sombreamento, sendo que as concentrações de Ca na altitude de 935 m representaram apenas 53, 71 e 615 das concentrações deste na altitude de 650 m nos níveis de sombreamento 0, 50 e 100% respectivamente. No caso do P, o efeito foi quase similar ao do Ca, mas este apenas ocorreu nos níveis de sombreamento 50 e 100%, pois as concentrações diminuíram significativamente com o aumento da altitude, sendo que as concentrações de P na altitude 935 m representaram apenas cerca de 86% das concentrações de P na altitude de 650 m em ambos os níveis de sombreamento. Para os macronutrientes minerais S, Si e Cl, o efeito da altitude em geral foi similar ao dos minerais supracitados pois verificou-se um efeito significativo na diminuição progressiva das concentrações destes minerais nos grãos de café verde com o aumento da altitude, isto é de 650 m para 935 m em todos os níveis de sombreamento.

Para o caso do Si onde verificou-se um efeito significativo do sombreamento nas concentrações deste, onde nas altitudes 650 e 825 m houve uma aumento da concentração de Si do nível de sombreamento de 0% para 50% e um decréscimo ao se atingir o sombreamento total (100%), no entanto, na altitude 935 m houve um decréscimo cumulativo das concentrações de Si do nível de sombreamento mais baixo ao máximo de sombreamento.

**Tabela 4.5:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos teores dos macronutrientes minerais nos grãos de café verde.

Mineral	Altitude (m)	Sombreamento (%)		
		0	50	100
<b>Macronutrientes</b>				
<b>Ca (mg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	4,25 ± 0,47 Aa	3,57 ± 0,18 Aa	3,98 ± 0,13 Aa
	<b>825</b>	2,51 ± 0,30 Ab	3,25 ± 0,27 Ab	3,78 ± 0,48 Ab
	<b>935</b>	2,24 ± 0,23 Ac	2,55 ± 0,14 Ac	2,44 ± 0,26 Ac
<b>K (mg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	19,24 ± 0,71 Aa	20,65 ± 0,29 Aa	21,09 ± 1,34 Aa
	<b>825</b>	20,62 ± 1,85 Aa	19,40 ± 0,26 Aa	20,57 ± 0,54 Aa
	<b>935</b>	18,36 ± 0,35 Aa	19,53 ± 0,36 Aa	20,28 ± 0,33 Aa
<b>P (mg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	1,04 ± 0,03 Aab	1,18 ± 0,02 Aab	1,14 ± 0,20 Aab
	<b>825</b>	1,23 ± 0,08 Aa	1,15 ± 0,04 Aa	1,24 ± 0,05 Aa
	<b>935</b>	1,09 ± 0,04 Ab	1,00 ± 0,04 Ab	0,99 ± 0,01 Ab
<b>S (mg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	4,03 ± 0,57 Aa	3,33 ± 0,05 Aa	3,55 ± 0,14 Aa
	<b>825</b>	3,13 ± 0,13 Aab	3,18 ± 0,04 Aab	3,32 ± 0,19 Aab
	<b>935</b>	3,27 ± 0,34 Ab	3,02 ± 0,09 Ab	2,98 ± 0,07 Ab
<b>Si (mg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	0,747 ± 0,029 ABa	0,803 ± 0,029 Aa	0,705 ± 0,034 Ba
	<b>825</b>	0,555 ± 0,015 ABb	0,658 ± 0,024 Ab	0,614 ± 0,028 Bb
	<b>935</b>	0,600 ± 0,028 ABb	0,595 ± 0,030 Ab	0,561 ± 0,044 Bb

<b>Cl (mg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	0,204 ± 0,002 Aa	0,215 ± 0,007 Aa	0,204 ± 0,013 Aa
	<b>825</b>	0,163 ± 0,015 Ab	0,176 ± 0,007 Ab	0,195 ± 0,023 Ab
	<b>935</b>	0,141 ± 0,013 Ac	0,122 ± 0,012 Ac	0,127 ± 0,013 Ac

Para cada parâmetro os valores são representados pela média±erro padrão (n=4). Médias seguidas com letras diferentes maiúsculas (A, B e C), representam diferenças significativas entre os níveis de sombreamento para a mesma altitude, e médias seguidas de letras diferentes minúsculas (a, b e c) representam diferenças significativas entre os níveis de altitude para o mesmo nível de sombreamento pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A produção de compostos bioativos relacionados ao sabor e aroma desejáveis no café envolve um enorme complexo de reações químicas, nas quais alguns dos nutrientes mineiras exercem um papel bastante fundamental, e por isso estes podem também afetar a qualidade dos grãos e da bebida de café (Clemente *et al.*, 2018; Ramalho *et al.*, 2018). Os minerais encontrados no café incluem potássio, magnésio, cálcio, sódio, ferro, manganês, rubídio, zinco, cobre, estrôncio, cromo, vanádio, bário, níquel, cobalto, chumbo, molibdênio, titânio e cádmio (Mussatto *et al.*, 2011). Os elementos presentes no café são reconhecidos como tendo efeitos benéficos para a saúde, por exemplo uma maior ingestão de Ca, K e Mg reduz o risco de Hipertensão (Stelmach *et al.*, 2015).

O conteúdo de nutrientes minerais nos grãos verdes de café arábica varia de ca. 30-45 mg g<sup>-1</sup> sendo o K o mineral com a maior contribuição (com cerca de 40% do total da concentração de minerais) (Stelmach *et al.*, 2015). Estes resultados vão de acordo como os encontrados no presente estudo, onde o K apresenta valores muito maiores em relação aos outros minerais com valores que variam de 19,24 a 21,09 mg g<sup>-1</sup>, onde também pode se verificar que não houve nenhum efeito significativo da altitude e do sombreamento no conteúdo deste nos grãos verdes do café, pois a temperatura que é o factor mais afetado pela variação da altitude e sombreamento não influencia a acumulação de K nas folhas (Ramalho *et al.*, 2018). Entretanto estes valores são próximos aos reportados no estudo que procurou a analisar os minerais de amostras comerciais de café verde no Brasil, Colômbia e México, onde os valores variaram entre 13,24-18,65 mg g<sup>-1</sup> nos três países (Muñiz-Valencia *et al.*, 2013).

No entanto os conteúdos de Ca foram duas a três vezes maiores aos encontrados em estudos anteriores efetuados por Muñiz-Valencia *et al.* (2013) e Stelmach *et al.* (2015) e este macronutriente tem um papel relevante pois a capacidade antioxidante do café depende dos níveis de Ca, o que pode indicar um aumento desta capacidade devido aos elevados níveis de Ca encontrados relativamente aos reportados em estudos anteriores. Embora os conteúdos de Ca detetados nos grãos de café estudados sejam muito maiores dos reportados em outros cafés, verificou-se que com o aumento da altitude houve um decréscimo na acumulação de Ca nos grãos de café. Este comportamento pode estar associado com o efeito adverso da redução da temperatura na acumulação dos micro e macronutrientes minerais (incluindo o Ca) nas folhas, que conseqüentemente afeta a sua translocação para os grãos (Ramalho *et al.*, 2018). Assim, pode-se inferir que com o aumento da altitude (redução da temperatura), o acúmulo de Ca nos grãos verdes de café é significativamente afetado.

Relativamente ao P, observou-se valores próximos aos reportados anteriormente por Şemen *et al.* (2017), e o aumento da altitude de 650 para 935 m refletiu-se no abrandamento significativo na

acumulação deste macronutriente apenas nos cafés cultivados sob sombreamento, pois deve ter havido um efeito aditivo do sombreamento na redução da temperatura na altitude mais elevada, pois os estudos de Martins *et al.* (2014) e Ramalho *et al.* (2018) não mostraram o efeito da temperatura no acúmulo de P nas folhas de café. Assim como os outros minerais anteriormente citados, a acumulação de S, Si e Cl, embora com valores próximos aos detetados por Debastiani *et al.* (2019), também foi afetada com o aumento da altitude, o que indica que em geral a diminuição da temperatura têm um efeito adverso na acumulação dos nutrientes minerais nos grãos de café o que pode refletir na produção de compostos bioativos essenciais e comprometer a qualidade final da bebida. Porém, o presente estudo mostrou que, mesmo na altitude mais elevada o conteúdo dos macronutrientes encontrados foi bastante elevado ou próximo relativamente aos cafés comerciais estudados por outros autores (Muñiz-Valencia *et al.*, 2013; Stelmach *et al.*, 2015; Şemen *et al.* 2017; Debastiani *et al.*, 2019), o que significa que estes ambientes não constituíram ameaça à qualidade do café no concernente a quantidade dos macronutrientes, pois não reduziram as concentração dos mesmos para teores mais baixos do que os normalmente detetadas principalmente em países com elevados índices de produção como o Brasil, Colômbia e México.

#### b) Micronutrientes

Quanto às concentrações dos micronutrientes, apenas as concentrações do Mo, Nb e Zr, é que foram significativamente influenciadas pela altitude. O sombreamento não teve nenhum efeito significativo na concentração de nenhum dos minerais. O Rb não sofreu o efeito de nenhum dos factores em estudo (Tabela 4.6). Em geral nos micronutrientes Mo, Nb e Zr, verificou-se um decréscimo não progressivo das concentrações dos minerais em todos os níveis de sombreamento com o aumento da altitude, sendo que as reduções mais elevadas para Mo, Nb e Zr verificaram-se nos níveis de sombreamento 50,100 e 50% respectivamente, sendo que as concentrações destes minerais na altitude de 935 m representam 41, 85 e 55% das concentrações na altitude 650 m respectivamente, para os respetivos níveis de sombreamento.

**Tabela 4.6:** Influência dos diferentes níveis de altitude e sombreamento nos teores dos micronutrientes minerais nos grãos de café verde.

Mineral	Altitude (m)	Sombreamento (%)		
		0	50	100
<b>Micronutrientes</b>				
<b>Mo (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math> PS)</b>	<b>650</b>	3,38 $\pm$ 0,12 Aa	6,33 $\pm$ 1,70 Aa	4,79 $\pm$ 1,52 Aa
	<b>825</b>	2,89 $\pm$ 0,02 Ab	2,89 $\pm$ 0,06 Ab	2,97 $\pm$ 0,18 Ab
	<b>935</b>	2,92 $\pm$ 0,15 Aab	2,61 $\pm$ 0,12 Aab	4,00 $\pm$ 1,42 Aab
<b>Nb (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math> PS)</b>	<b>650</b>	5,89 $\pm$ 0,22 Aa	5,92 $\pm$ 0,05 Aa	6,01 $\pm$ 0,26 Aa
	<b>825</b>	5,24 $\pm$ 0,13 Ab	5,29 $\pm$ 0,14 Ab	5,61 $\pm$ 0,25 Ab
	<b>935</b>	5,28 $\pm$ 0,12 Ab	5,24 $\pm$ 0,16 Ab	5,10 $\pm$ 0,11 Ab
<b>Zr (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math> PS)</b>	<b>650</b>	3,86 $\pm$ 0,13 Aa	6,09 $\pm$ 1,15 Aa	5,02 $\pm$ 0,96 Aa

	<b>825</b>	3,09 ± 0,07 Ab	3,27 ± 0,15 Ab	3,36 ± 0,26 Ab
	<b>935</b>	3,51 ± 0,07 Ab	3,36 ± 0,14 Ab	4,16 ± 1,07 Ab
<b>Rb (µg g<sup>-1</sup> PS)</b>	<b>650</b>	15,07 ± 0,46 Aa	23,75 ± 4,65 Aa	21,81 ± 5,84 Aa
	<b>825</b>	17,09 ± 1,79 Aa	18,29 ± 0,46 Aa	17,06 ± 1,02 Aa
	<b>935</b>	14,21 ± 0,89 Aa	17,06 ± 0,52 Aa	20,47 ± 4,47 Aa

Para cada parâmetro os valores são representados pela média±erro padrão (n=4). Médias seguidas com letras diferentes maiúsculas (A, B e C), representam diferenças significativas entre os níveis de sombreamento para a mesma altitude, e médias seguidas de letras diferentes minúsculas (a, b e c) representam diferenças significativas entre os níveis de altitude para o mesmo nível de sombreamento pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nos alimentos, existem elementos minerais denominados micronutrientes ou elementos traço, onde entre eles alguns são essenciais como o Zn, Cu, Mn, Cr, Mo e outros são tóxicos em certas quantidades como o Pb, Cd, Ni e Hg, pois são usados pelo organismo apenas em pequenas quantidades nos vários processos enzimáticos (Gure *et al.*, 2017). A concentração destes minerais no café depende de vários factores sendo os principais a cultivar, tipo de solo, clima, práticas agrícolas e o processamento pós-colheita (Pohl *et al.*, 2013; Şemen *et al.* 2017). Os valores das concentrações dos micronutrientes encontrados no presente estudo são bastante elevados relativamente aos reportados em estudos anteriores. Para o caso do Rb, no estudo de Santato *et al.* (2012), verificou-se diferentes concentrações deste micronutriente em diferentes amostras de café provenientes de quatro continentes, sendo que os valores variaram bastante, tendo-se em encontrado um mínimo de 9,21 µg g<sup>-1</sup> nas amostras de origem Africana mas também encontrou-se concentrações de Rb em torno de 85,2 µg g<sup>-1</sup> em amostras de café verde provenientes da Ásia, sendo que este último valor ultrapassa em mais de quatro vezes os valores encontrados no presente estudo. Todavia, estes dois micronutrientes não sofreram o efeito das variações da altitude e do sombreamento.

Em relação aos micronutrientes que foram influenciados pela variação da altitude, verificou-se teores de Mo (2,61-4,79 µg g<sup>-1</sup>) muito maiores relativamente aos reportados no estudo de Santato *et al.* (2012) onde encontrou-se um valor máximo de 0,436 µg g<sup>-1</sup>. Para o Zr, os valores foram também relativamente mais altos que os encontrados no estudo realizado por Barbosa *et al.* (2014), onde encontrou-se um teor máximo de 0,164 µg g<sup>-1</sup> Zr nos cafés do Brazil, valor este 18 a 37 vezes menor que os encontrados no presente estudo. No geral, o Mo, Nb e Zr, decresceram significativamente a sua acumulação com aumento da altitude como se verificou com os macronutrientes devido a redução da temperatura (Martins *et al.*, 2014; Ramalho *et al.*, 2019).

Em relação aos outros elementos traços como o Cr, Fe, Zn, Sr, Ni, Hg, Fe, Cu, Mn, Ni, Co, Se, As, entre outros (dados não apresentados), estes apresentaram concentrações abaixo do teor de deteção, e estes resultados são bastante similares aos reportados por vários autores (Santato *et al.*, 2012; Stelmach *et al.*, 2015; Şemen *et al.* 2017; Debastiani *et al.*, 2019). Embora certos elementos traços encontrados tenham efeito positivo para o organismo, por se combinarem as vitaminas e formarem enzimas que são importantes nos processos metabólicos do organismo humano (Gure *et al.*, 2017), é importante que se tenha muita atenção com os seus teores, pois pode haver o risco de reduzir a qualidade da bebida, ou mesmo induzir um certo grau de toxicidade ao consumidor.

Estes valores elevados nas concentrações de alguns elementos podem estar conectados com alguns parâmetros ambientais, principalmente do solo, como a concentração dos metais pesados nestes solos, bem como o respetivo pH, assim como a lavagem de bases que ocorre em zonas com muita precipitação. Além disso o processo de produção da amostra pode também ter tido efeito na contaminação da amostra com metais pesados, e.g. a trituração que se fez em um equipamento metálico (Pohl *et al.*, 2013).

Assim no geral, pode ser dizer que o mesmo genótipo plantado em diferentes ambientes pode variar muito na qualidade final da bebida de café. Pois, estudos anteriores mostraram que o aumento dos atributos positivos (aparência e preferência) juntamente com a diminuição de atributos negativos (amargor e adstringência) foi encontrada em café cultivados a sombra (Geromel *et al.*, 2008, Muschler, 2001, Vaast *et al.*, 2006). Este facto, é em grande parte devido a criação de um microclima caracterizado por baixas temperaturas nas plantas que pode estar associado também a altas altitudes (DaMatta e Ramalho, 2006; Ramalho *et al.*, 2018). Esta redução da temperatura, além de promover a redução do stress causado por altas temperaturas nas folhas e nos fotossistemas, permite uma desaceleração do desenvolvimento dos grãos o que resulta na produção e translocação adequada em quantidade e qualidade dos compostos bioativos que são responsáveis como precursores dos sabores desejados no café (DaMatta e Ramalho, 2006; Cheng *et al.*, 2016).

## V. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

### 5.1 Conclusões

Com os resultados obtidos, pode concluir-se que apenas a altitude influenciou nos parâmetros de qualidade física dos grãos verdes de café, pois não se verificou o efeito do sombreamento e nenhuma interação entre os dois factores teve um efeito significativo sobre os parâmetros de qualidade física estudados. Assim, constatou-se que, com o aumento da altitude, prevaleceu um incremento na massa de 100 grãos, tendo-se verificado que a massa de 100 grãos nos cafés plantados na altitude de 935 m foi 40 a 53% superior à dos grãos da altitude de 650 m. No entanto, este aumento da massa dos grãos não influenciou no aumento da densidade dos mesmos, pois não se verificou nenhum efeito da altitude na densidade aparente.

Em relação ao tamanho dos grãos, através da crivagem manual, verificou-se que a altitude de 935 m foi a que apresentou o crivo mais frequente maior em todos níveis de sombreamento, e que foi o de 18, o que significa que maior parte dos grãos de café nesta altitude têm diâmetros superiores a 7,50 mm. Em relação ao crivo médio, a altitude de 935 m aliada ao sombreamento a 100% das plantas é que apresentou maior crivo médio com o valor de 18, ou seja, neste tratamento os grãos de café verde tiveram um diâmetro médio maior que 7,50 mm. Entretanto o menor crivo médio foi verificado no tratamento com altitude de 825 m aliado a 100% de sombreamento com o valor de 16,38. Relativamente à homogeneidade comercial dos grãos, verificou-se que os grãos foram mais homogêneos no tratamento da altitude máxima em pleno sol com uma homogeneidade de 59.89% e menos homogêneo na altitude mais baixa (650 m) com o mesmo nível de sombreamento. Entretanto estes valores são bastante baixos, segundo algumas normas internacionais, o que aconselha que se faça uma calibração para se ter valores de homogeneidade mais altos.

Em relação à cor, apenas a altitude teve influência sobre os parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $c^*$  e  $H^*$ . Nos parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$  e  $c^*$  houve um decréscimo dos valores da altitude 650 m para 935 m em todos os níveis de sombreamento. Em relação ao valor de  $H^*$ , este aumentou proporcionalmente a elevação do campo do cultivo.

A altitude influenciou de forma isolada a cafeína com aumentos de até 30% na altitude de 935 m relativamente a de 650 m. Todavia, os teores de trigonelina e dos ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico foram influenciados pelo efeito conjunto da altitude e do sombreamento o que mostra uma relação complexa entre os dois factores na influência do teor destes compostos nos grãos de café. Nestes compostos destacaram-se os baixos teores da trigonelina na altitude de 825 m apenas nos níveis de sombreamento de 50 e 100%. O teor de todos os ácidos clorogénicos não foi influenciado pelos dois factores em estudo.

Em relação aos outros parâmetros químicos de qualidade analisados nos grãos verdes de café, verificou-se que o pH e os fenóis totais foram influenciados tanto pela altitude como pelo sombreamento de forma isolada, onde para o pH houve um aumento na altitude de 825 m e redução deste com o aumento do sombreamento. Em relação aos fenóis totais, tanto a altitude como o sombreamento

influenciaram no aumento deste composto, sendo que com o aumento da altitude, os incrementos chegaram até 48% na altitude 935 m relativamente a 650 m. Relativamente à acidez titulável e ao teor de sólidos solúveis, estes foram influenciados pelas interações dos dois factores, onde destacou-se o aumento dos teores de sólidos solúveis apenas nas plantas sob sombreamento.

Em relação aos macronutrientes, verificou-se que apenas os elementos Ca, P, S, Si e Cl é que foram influenciados pela altitude, e o Si foi influenciado também pelo sombreamento. Todavia o K não sofreu o efeito de nenhum dos factores. No geral com o aumento da altitude houve uma redução da acumulação destes macronutrientes, e para o Si verificou-se um aumento com o sombreamento. Em relação aos micronutrientes minerais apenas os teores de Mo, Nb e Zr é que foram influenciados pela altitude e o efeito foi similar ao dos macronutrientes.

Em relação a qualidade pode concluir-se que com o aumento da altitude houve um grande incremento na qualidade do café, como é o caso do aumento do peso dos grãos e do tamanho, sendo o nível de altitude 935 m o que apresentou melhores resultados. Em relação a cor, verificou-se um aumento da qualidade dos grãos com o aumento dos parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  e diminuição do parâmetro  $c^*$ . Em relação ao sombreamento este não mostrou grandes efeitos sobre a qualidade física do café.

Na qualidade química, a cafeína e a trigonelina aumentaram com a altitude sendo o nível de 935 m o que apresentou maiores valores, o que significa um aumento da qualidade do café, pois estes são dois compostos bioativos bastante importantes na qualidade da bebida e são precursores de vários sabores desejáveis. Em relação a acidez titulável que está diretamente ligada à bebida do café, não se verificou um aumento deste com o sombreamento apenas na altitude mais baixa. Todavia, os compostos fenólicos que são bastante importantes na capacidade antioxidante do café, mostraram um aumento da qualidade do café com a altitude e com o sombreamento, com maiores valores máximos nos níveis máximos dos dois factores. Verificou-se a mesma tendência relativamente ao teor de sólidos solúveis, o que aponta para o incremento do rendimento de extração para cafés instantâneos com o aumento da altitude e do sombreamento.

No geral, para os minerais o aumento da altitude reduziu o seu teor nos grãos, o que pode indicar a redução do conteúdo final de minerais na bebida, todavia esta redução favoreceu ao Zr que é um metal pesado. Assim, verificou-se que o aumento da altitude e do sombreamento ou não afetou a qualidade, ou aumentou a mesma. Por isso com os resultados aqui aferidos pode-se afirmar que a produção de café em sistemas agroflorestais (sombreamento) pode ser uma alternativa bastante viável para o reflorestamento da Serra da Gorongosa agregado à obtenção de rendimentos pela produção e exportação de café com qualidade.

## 5.2 Recomendações e perspectivas futuras

Com base nos resultados e nas conclusões do estudo recomenda-se que se se faça uma avaliação da qualidade dos grãos de café com os diferentes tratamentos em outros pontos/campos com características similares na serra da Gorongosa com a respetiva replicação a nível temporal (em várias épocas). Mas também, propõe-se que se faça os mesmos ensaios com outras espécies de café ou cultivares, que possam melhor se adaptar as condições das altitudes baixas da Serra da Gorongosa e dos sistemas agroflorestais em implementação, como por exemplo o café do tipo robusta que é mais resistente as altas temperaturas das baixas altitudes.

Deve-se fazer o controlo *in situ* com instrumentos apropriados dos elementos climáticos como a temperatura, radiação e outros que poderão ter sido influenciados pelos diferentes níveis de altitude e sombreamento para a sua padronização. A realização de estudos para se aferir a composição dos solos, em vários parâmetros tais como o pH, as bases ( $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ) e outros, incluindo os minerais para se aferir o seu efeito na concentração dos minerais nos grãos de café e em outros parâmetros de qualidade também é bastante importante para estudos como este.

Uma vez que o sombreamento e / ou a temperatura retardam a maturação do café em cerca de um mês e a composição bioquímica varia significativamente em diferentes estágios de desenvolvimento do grãos de café, e é difícil tirar uma conclusão sobre as influências do sombreamento e da altitude nos diferentes parâmetros, especificamente na cafeína e na trigonelina quando os grãos de diferentes tratamentos são colhidos ao mesmo tempo mesmo sabendo-se que a colheita é feita apenas em frutos maduros, recomenda-se a realização das mesmas análises em diferentes fases do desenvolvimento dos frutos, para se aferir do processo de biossíntese e biodegradação dos compostos nos diferentes tratamentos e se tirar as devidas ilações menos subjetivas sobre a qualidade dos grãos de café.

## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achard, F., Beuchle, R., Mayaux, P., Stibig, H. J., Bodart, C., Brink, A., Carboni, S., Desclée, B., Donnay, F., Eva, H. D., Lupi, A., Rasi, R., Seliger, R., and Simonetti, D. (2014). Determination of tropical deforestation rates and related carbon losses from 1990 to 2010. *Global Change Biology*, 20(8), 2540–2554. <https://doi.org/10.1111/gcb.12605>
- Aliah, A. M. N., Edzuan, A. M. F., and Diana, A. M. N. (2015). A Review of Quality Coffee Roasting Degree Evaluation. *Journal of Applied Science and Agriculture*, 10(7), 18–23.
- Alonso-Salce, R. M., Guillou, C., and Berrueta, L. A. (2009). Liquid chromatography coupled with ultraviolet absorbance detection, electrospray ionization, collision-induced dissociation and tandem mass spectrometry on a triple quadrupole for the on-line characterization of polyphenols and methylxanthines in green coffee beans. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23,363-383. <https://doi.org/10.1002/rcm.3884>
- Alves, S. T., Dias, R. C. E., Benassi, M. T., and Scholz, M. B. S. (2006). HPLC analysis of nicotinic acid, trigonelline, chlorogenic acid and caffeine in roasted coffee. *Química Nova*, 29, 1164–1168. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600003>
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). (1980). *Coffee and Tea*. 30 ed. cap. 15. USA. 1040 pp.
- Arauz, J., Ramos-Tovar, E., and Muriel, P. (2017). Coffee and the Liver. In: *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants* (pp. 675–685). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804274-8.00048-5>
- Ashihara, H. (2006). Metabolism of alkaloids in coffee plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 1–8. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100001>
- Avelino, J., Barboza, B., Araya, J. C., Fonseca, C., Davrieux, F., Guyot, B., and Cilas, C. (2005). Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1869–1876. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2188>
- Barahuie, F., Saifullah, B., Dorniani, D., Fakurazi, S., Karthivashan, G., Hussein, M. Z., and Elfghi, F. M. (2017). Corrigendum to “ Graphene oxide as a nanocarrier for controlled release and targeted delivery of an anticancer active agent , chlorogenic acid .” *Materials Science and Engineering C*, 75, 1525. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.050>
- Barbosa, R. M., Batista, B. L., Varrigue, R. M., Coelho, V. A., Campiglia, A. D., and Barbosa Jr., F. (2014). The use of advanced chemometric techniques and trace element levels for controlling the authenticity of organic coffee. *Food Research International*, 61, 246–251. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.060>
- Basavaraj, K., Gopinandhan, T., Ashwini, M., Gupta, N., and Banakar, M. (2014). Relationship between sensory perceived acidity and instrumentally measured acidity in indian coffee samples. *The Indian Journal of Nutrition and Dietetics*, 51(3), 286-292.
- Beer, J., Muschler, R., Kass, D., and Somarriba, E. (1998). Shade management in coffee and cacao plantations. In: Nair P.K.R., Latt C.R. (eds) *Directions in Tropical Agroforestry Research*. Forestry Sciences, vol 53. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-015-9008-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-015-9008-2_6).

- Berbert, P. A., Queiroz, D. M., Sousa, E. F., Molina, M. B., Melo, E. C., and Faroni, L. R. D. (2001). Dielectric properties of parchment coffee. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, 80(1), 65–80. <https://doi.org/10.1006/jaer.2000.0689>
- Bertrand, B., Vaast, P., Alpizar, E., Etienne, H., Davrieux, F., and Charmetant, P. (2006). Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. *Tree Physiology*, 26, 1239–1248.
- Bhagwat, S. A., Willis, K. J., Birks, H. J. B., and Whittaker, R. J. (2008). Agroforestry: a refuge for tropical biodiversity? *Trends in Ecology and Evolution*, 23(5), 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.01.005>
- Bicho, N. C., Leitão, A. E., Ramalho, J. C., and Lidon, F. C. (2012a). Chemical descriptors for sensory and parental origin of commercial *Coffea* genotypes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(7), 835–842. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.676027>
- Bicho, N. C., Leitão, A. E., Ramalho, J. C., and Lidon, F. C. (2012b). Use of colour parameters for roasted coffee assessment. *Food Science and Technology (Campinas)*, 32(3), 436–442. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000068>
- Bicho, N. C., Leitão, A. E., Ramalho, J. C., and Lidon, F. C. (2014). Application of colour parameters for assessing the quality of Arabica and Robusta green coffee. *Emir. J. Food Agric.*, 26(1), 9–17. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i1.17190>
- Boldrin, P.F., Valdemar, F., Ramos, S.J., Guilherme, L.R.G., Bastos, C., Carvalho, G., and Costa, E. (2012). Selenate and selenite on yield and agronomic biofortification with selenium in rice. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 47 (6), 831–837. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000600014>.
- Bolivar, J. T., Pérez, W. R., Salazar, J. C. S., Espinosa, C. M. O., and Cano, G. A.V. (2017), Minority compounds and sensory analysis evaluation of *Coffea arabica* var. caturra cultivated in three different altitudinal ranges. *Acta Agronómica*, 66(2), 221-227. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v66n2.58126>
- Bonvehí, J. S., and Coll, F. V. (1997). Evaluation of bitterness and astringency of polyphenolic compounds in cocoa powder. *Food Chemistry*, 60(3), 365–370. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(96\)00353-6](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(96)00353-6)
- Borém, F. M., Ribeiro, F. C., Figueiredo, L. P., Giomo, G. S., Fortunato, V. A., and Isquierdo, E. P. (2013). Evaluation of the sensory and color quality of coffee beans stored in hermetic packaging. *J. Stored Prod. Res.* 52, 1–6. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2012.08.004>
- Bosselmann, A. S., Dons, K., Oberthur, T., Olsen, C. S., Ræbild, A., and Usma, H. (2009). The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee agroforestry systems in Southern Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129(1–3), 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.09.004>
- Bote, A. D., and Jan, V. (2016). Branch growth dynamics, photosynthesis, yield and bean size distribution in response to fruit load manipulation in coffee trees. *Trees*, 30(4), 1275–1285. <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1365-x>

- Bote, A. D., and Vos, J. (2017). Tree management and environmental conditions affect coffee (*Coffea arabica* L.) bean quality. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 83, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2017.09.002>
- Botelho, F. M., Correa, P. C., Botelho, S. de C. C., Elías, G. A. V., Almeida, M. D. S. D., Oliveira, G. H. H. de, (2016). Propriedades físicas de frutos de café robusta durante a secagem: determinação e modelagem. *Coffee Science*, 11(1), 65-75. <http://dx.doi.org/10.25186/cs.v11i1.972>
- Cacciotti, I., Mori, S., Cherubini, V., and Nanni, F. (2018). Eco-sustainable systems based on poly(lactic acid), diatomite and coffee grounds extract for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 567–575. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.018>
- Cano-Marquina, A., Tarín, J. J., and Cano, A. (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas*, 75, 7-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.02.002>
- CEAGRE (Centro de Estudos de Agricultura e Gestão de Recursos Naturais) e WI (Winrock Internacional). (2016). *Identificação e análise dos agentes e causas directas e indirectas de desmatamento e degradação florestal em Moçambique* (Relatório Final). Maputo. 36 pp.
- Çelik, E. E., and Gökmen, V. (2018). A study on interactions between the insoluble fractions of different coffee infusions and major cocoa free antioxidants and different coffee infusions and dark chocolate. *Food Chemistry*, 255(February), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.048>
- Chandler, R. B., King, D. I., Raudales, R., Trubey, R., Chandler, C., and Arce Chávez, V. J. (2013). A small-scale land-sparing approach to conserving biological diversity in tropical agricultural landscapes. *Conservation Biology*, 27(4), 785–795. <https://doi.org/10.1111/cobi.12046>
- Chaves, A. R. M., Martins, S. C. V., Batista, K. D., Celin, E. F., and DaMatta, F. M. (2012). Varying leaf-to-fruit ratios affect branch growth and dieback, with little to no effect on photosynthesis, carbohydrate or mineral pools, in different canopy positions of field-grown coffee trees. *Environmental and Experimental Botany*, 77, 207–218. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.11.011>
- Cheng, B., Furtado, A., Smyth, H. E., and Henry, R. J. (2016). Influence of genotype and environment on coffee quality. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.003>
- Cheng, B., Furtado, A., Smyth, H. E., and Henry, R. J. (2016). Influence of genotype and environment on coffee quality. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.003>
- Clemente, J. M., Martinez, H. E. P., Pedrosa, A. W., Neves, Y. P., Cecon, P. R. e Jifon, J. L. (2018). Boron, Copper, and Zinc Affect the Productivity, Cup Quality, and Chemical Compounds in Coffee Beans. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2018/7960231>
- Clough, Y., Barkmann, J., Juhbandt, J., Kessler, M., Wanger, T. C., Anshary, A., Buchori, D., Cicuzza, D., Darras, K., Putra, D. D., Erasmi, S., Pitopang, R., Schmidt, C., Schulze, C. H., Seidel, D., Steffan-Dewenter, Stenchly, K., Vidal, S., Weist, M., Wielgoss, A. C, and scharntke, T. (2011). Combining high biodiversity with high yields in tropical agroforests. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(20), 8311–8316. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016799108>
- Corti, R., Binggeli, C., Sudano, I., Spieker, L., Hänseler, E., Ruschitzka, F., Chaplin, W. F., Lüscher,

- T.F., and Noll, G. (2002). Coffee acutely increases sympathetic nerve activity and blood pressure independently of caffeine content. *Circulation*, 106(23), 2935–2940. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000046228.97025.3A>
- Costabile, A., Sarnsamak, K., and Hauge-Evans, A. C. (2018). Coffee, type 2 diabetes and pancreatic islet function – A mini-review. *Journal of Functional Foods*, 45, 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.011>
- DaMatta, F. M., and Ramalho, J. D. C. (2006). Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant. Physiology*, 18(1), 55–81. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100006>
- DaMatta, F. M., Chaves, A. R. M., Pinheiro, H. A., Ducatti, C., and Loureiro, M. E. (2003). Drought tolerance of two field-grown clones of *Coffea canephora*. *Plant Science*, 164(1), 111–117. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00342-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00342-4)
- DaMatta, F. M., Ronchi, C. P., Maestri, M., and Barros, R. S. (2008). Ecophysiology of coffee growth and production. *Braz. J. Plant Physiol.*, 19(4), 485-510. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202007000400014>
- Davis, A. P., Govaerts, R., Bridson, D. M., and Stoffelen, P. (2006). An annotated taxonomic conspectus of the genus. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 465–512
- De Beenhouwer, M., Aerts, R., and Honnay, O. (2013). A global meta-analysis of the biodiversity and ecosystem service benefits of coffee and cacao agroforestry. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 175, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.05.003>
- De Bruyn, F., Zhang, S. J., Pothakos, V., Torres, J., Lambot, C., Moroni, A. V., Callanan, M., Sybesma, W., Weckx, S., and De Vuyst, L. (2017). Exploring the impacts of postharvest processing on the microbiota and metabolite profiles during green coffee bean production. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), e02398-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02398-16>
- De Meija, E. G., and Ramirez-Mares, M. V. (2014). Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 25(10), 489–492. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.07.003>
- De Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Magalhães Júnior, A. I., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B. P., Vandenberghe, L. P. S., and Soccol, C. R. (2019). Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. *Food Chemistry*, 272(August 2018), 441–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>
- Debastiani, R., dos Santos, C. E. I., Ramos, M. M., Souza, V. S., Amaral, L., Yoneama, M. L., and Ferraz Dias, J. (2019). Elemental analysis of Brazilian coffee with ion beam techniques: From ground coffee to the final beverage. *Food Research International*, 119, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.007>
- Delgado-Andrade, C., and Morales, F. J. (2005). Unraveling the contribution of melanoidins to the antioxidant activity of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1403–1407. <https://doi.org/10.1021/jf048500p>
- Diby, L., Kahia, J., Kouamé, C., and Aynekulu, E. (2016). Tea, Coffee, and Cocoa. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 3, 420–425. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00179-9>

- Duarte, G. S., Pereira, A. A., and Farah, A., (2010), Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods, *Food Chemistry*, 118, 851–855. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.042>
- Esquivel, P., and Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
- Esteves, A. B., Oliveira, F. S., (1970), *Contribuição para o estudo das características dos cafés de Angola*. Junta de investigações do Ultramar estudos ensaios e Documentos. Lisboa. 126 pp.
- Falcão, M. P., e Noa, M. (2016). *Definição de florestas, desmatamento e degradação florestal no âmbito do REED+*. FUNAB. Maputo. 33 pp.
- Farah, A. (2012). Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention. In: Y.-F. Chu (Ed.) (First Edit). John Wiley e Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119949893.ch2>
- Farah, A., and Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee - Minireview. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 23–36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
- Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., Franca, A. S., and Trugo, L. C. (2006). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*, 98(2), 373–380. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.032>
- Fareez Edzuan, A. M., Noor Aliah, A.M., and Bong, H. L. (2015). Physical and Chemical Property Changes of Coffee Beans during Roasting. *American Journal of Chemistry*, 5(3A), 56–60. <https://doi.org/10.5923/c.chemistry.201501.09>
- Ferreira, G. F. P., Novaes, Q. S. de, Malta, M. R., and Souza, S. E. de (2013). Quality of coffee produced in the Southwest region of Bahia, Brazil subjected to different forms of processing and drying. *African Journal of Agricultural Research*, 8(20), 2334-2339. <http://dx.doi.org/10.5897/AJAR2013.7038>
- Ferreira, L. R., Macedo, J. A., Ribeiro, M. L., and Macedo, G. A. (2013). Improving the chemopreventive potential of orange juice by enzymatic biotransformation. *Food Research International*, 51(2), 526–535. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.018>
- Flanagan, J., Bily, A., Rolland, Y., and Roller, M. (2014). Lipolytic activity of svetol??, a decaffeinated green coffee bean extract. *Phytotherapy Research*, 28(6), 946–948. <https://doi.org/10.1002/ptr.5085>
- Franca, A. S., and Oliveira, L. S. (2018). Chemistry of defective coffee beans. In: E. N. Koeffler (Ed). *Food Chemistry Research Developments*. (Cap. 4, 35 pp, 105-138). Nova Science Publishers, Inc. ISBN: 978-1-60456-303-0.
- Franca, A. S., Oliveira, L.S., Oliveira, R. C. C., Agresti, P. C. M., and Augusti, R. (2009). A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. *Journal of Food Engineering*, 92, 345–352. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.012>
- Franklin, G., and Dias, A. C. P. (2011). Chlorogenic acid participates in the regulation of shoot, root and root hair development in *Hypericum perforatum*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(8), 835–842. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.05.009>
- Frost-Meyer, N. J., and Logomarsino, J. V. (2012). Impact of coffee components on inflammatory markers: A review. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 819–830.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.05.010>

- Fuhrman, B. J., Smit, E., Crespo, C. J., and Garcia-Palmieri, M. R. (2009). Coffee intake and risk of incident diabetes in Puerto Rican men: Results from the Puerto Rico Heart Health Program. *Public Health Nutrition*, 12(6), 842–848. <https://doi.org/10.1017/S1368980008003303>
- Gauthier, L., Bonnin-Verdal, M. N., Marchegay, G., Pinson-Gadais, L., Ducos, C., Richard-Forget, F., and Atanasova-Penichon, V. (2016). Fungal biotransformation of chlorogenic and caffeic acids by *Fusarium graminearum*: New insights in the contribution of phenolic acids to resistance to deoxynivalenol accumulation in cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 221(856), 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.005>
- Geromel, C., Ferreira, L.P., Davrieux, F., Guyot, B., Ribeyre, F., Scholz, M. B. dos S., Pereira, L. F. P., Vaast, P., Pot, D., Leroy, T., Androcioli Filho, A., Vieira, L. G. E., Mazzafera, P., and Marraccini, P. (2008). Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. *Plant. Physiol. Biochem.*, 46(5-6), 569-79. doi: 10.1016/j.plaphy.2008.02.006
- Gonzalez-Rios, O., Suarez-Quiroz, M. L., Boulanger, R., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J. P., and Schorr-Galindo, S. (2007). Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3–4), 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.07.009>
- Grant, S. S., Magruder, K. P., and Friedman, B. H. (2018). Controlling for caffeine in cardiovascular research: A critical review. *International Journal of Psychophysiology*, 133(June), 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2018.07.001>
- Grosso, G., Godos, J., Galvano, F., and Giovannucci, E. L. (2017). Coffee, Caffeine, and Health Outcomes: An Umbrella Review. *Annual Review of Nutrition*, 37(1), 131–156. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064941>
- Gure, A., Chandravanshi, B. S. and Godeto, T. W. (2017). Metals in green coffee beans from major coffee-growing regions of Ethiopia. *Chemistry International*, 3(4), 359-369.
- Hindorf, H., and Omondi, C. O. (2011). A review of three major fungal diseases of *Coffea arabica* L. in the rainforests of Ethiopia and progress in breeding for resistance in Kenya. *Journal of Advanced Research*, 2(2), 109–120. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2010.08.006>
- Houghton, R. A. (2012). Carbon emissions and the drivers of deforestation and forest degradation in the tropics. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 4(6), 597–603. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2012.06.006>
- <http://hazmatmag.com/2017/09/validation-of-handheld-x-ray-fluorescence-for-in-situ-measurement-of-mercury-in-soils/>. Consultado em 3 de Março de 2019.
- ICO (International Coffee Organization). (2018). *Development of coffee trade flows*. 121<sup>st</sup> Session. Mexico City, Mexico. 22 pp.
- ISO (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION) 4119. (2005). Green coffee - Olfactory and visual examination and determination of foreign matter and defects. 10 pp.
- ISO (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION) 4150 (2011). Green coffee-Size analysis - Manual sieving. 12 pp.
- Janissen, B., and Huynh, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee

- industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 128(July 2017), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.001>
- Jezeer, R. E., Verweij, P. A., Santos, M. J., and Boot, R. G. A. (2017). Shaded Coffee and Cocoa – Double Dividend for Biodiversity and Small-scale Farmers. *Ecological Economics*, 140, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.04.019>
- Jha, S., Bacon, C. M., Philpott, S. M., Méndez, V. E., Läderach, P and Rice, R. A. (2014). Shade Coffee: Update on a Disappearing Refuge for Biodiversity. *BioScience*, 64(5), 416–428. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu038>
- Jha, S., Bacon, C.M., Philpott, S.M., Méndez, E, Läderach, P., and Rice, R. A. (2014). Shade Coffee: Update on a Disappearing Refuge for Biodiversity. *BioScience*, 64(5), 416–428. <https://doi.org/10.1093/biosci/biu038>
- Joët, T., Laffargue, A., Descroix, F., Doulebeau, S., Bertrand, B., Kochko, A., and Dussert, S. (2010). Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry*, 118, 693–701. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.048>
- Knopp, S., Bytof, G., and Selmar, D. (2006). Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *European Food Research and Technology*, 223(2), 195–201. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0172-1>
- Krishnan, S. (2017). *Environmental Impacts and Sustainability of Coffee Production* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780199389414.013.224>
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., and Liu, S. Q. (2015). Coffee fermentation and flavor - An intricate and delicate relationship. *Food Chemistry*, 185, 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.124>
- Leroy, T., Ribeyre, F., Bertrand, B., Charmetant, P., Dufour, M., Montagnon, C., Marracini, P., and Pot, D. (2006). Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 229–242. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100016>
- Li, H., Chu, Z., Dong, W., Hu, R., Zhu, K., Zhang, Y., and Long, Y. (2018). Comparative evaluation of the volatile profiles and taste properties of roasted coffee beans as affected by drying method and detected by electronic nose, electronic tongue, and HS-SPME-GC-MS. *Food Chemistry*, 272, 723–731. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.068>
- Lidon, F., e Silvestre, M. M. (2007). *Indústrias Alimentares. Aditivos e tecnologia*. Escolar editora. Lisboa.ISBN: 9789725922033. 359 pp.
- Lowor, S.T., Amoah, F.M., and Opoku-Ameyaw, K. (2007). Drying process and Ghanaian green coffee quality crude protein, pH and caffeine levels. *African Journal of Agricultural Research*, 2(12), 698–699.
- MAE [Ministério da Administração Estatal]. (2014). *Perfil do Distrito da Gorongosa, Província de Sofala*. Maputo, Moçambique. 77 pp.
- Martín, M. A., and Ramos, S. (2016). Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. *Journal of Functional Foods*, 27, 570–588. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.10.008>
- Martín, M. Á., e Ramos, S. (2017). Health beneficial effects of cocoa phenolic compounds: a mini-review.

- Current Opinion in Food Science*, 14, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.12.002>
- Martini, D., Del Bo', C., Tassotti, M., Riso, P., Rio, D. Del, Brighenti, F., and Porrini, M. (2016). Coffee consumption and oxidative stress: A review of human intervention studies. *Molecules*, 21(8). <https://doi.org/10.3390/molecules21080979>
- Martins, L. D., Tomaz, M. A., Lidon, F. C., DaMatta, F. M., and Ramalho, J. C. (2014). Combined effects of elevated [CO<sub>2</sub>] and high temperature on leaf mineral balance in *Coffea* spp. plants. *Climatic Change*, 126(3-4), 365–379. <https://doi.org/10.1007/s10584-014-1236-7>.
- Mathur, S. B. & Kongsdal, O. (2003). *Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi*. First edition, ISTA, Copenhagen, Den Mark. 425 pp.
- Mendonça, J. C. F., Franca, A. S., and Oliveira, L. S. (2009). Physical characterization of non-defective and defective Arabica and Robusta coffees before and after roasting. *Journal of Food Engineering*, 92, 474–479. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.023>
- Meylan, L., Gary, C., Allinne, C., Ortiz, J., Jackson, L., and Rapidel, B. (2017). Evaluating the effect of shade trees on provision of ecosystem services in intensively managed coffee plantations. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 245, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.05.005>
- Mikami, Y., and Yamazawa, T. (2015). Chlorogenic acid, a polyphenol in coffee, protects neurons against glutamate neurotoxicity. *Life Sciences*, 139, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.08.005>
- Miranda, A. M., Steluti, J., Norde, M. M., Fisberg, R. M., and Marchioni, D. M. (2018). The association between genetic risk score and blood pressure is modified by coffee consumption: Gene–diet interaction analysis in a population-based study. *Clinical Nutrition*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.07.033>
- Mirón-mérida, V. A., Yáñez-fernández, J., Montañez-barragán, B., and Barragán, B. E. (2019). Valorization of coffee parchment waste (*Coffea arabica*) as a source of caffeine and phenolic compounds in antifungal gellan gum film. *LWT - Food Science and Technology*, 101, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.013>
- Moreira, S. L. S., Pires, C. V., Marcatti, G. E., Santos, R. H. S., Imbuzeiro, H. M. A., and Fernandes, R. B. A. (2018). Intercropping of coffee with the palm tree, *macauba*, can mitigate climate change effects. *Agricultural and Forest Meteorology*, 256-257, 379–390. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.03.026>
- Muñiz-Valencia, R., Jurado, J. M., Ceballos-Magaña, S. G., Alcázar, A. and Reyes, J. (2013). Geographical Differentiation of Green Coffees According to Their Metal Content by Means of Supervised Pattern Recognition Techniques. *Food Analytical Methods*, 6(5), 1271–1277. <http://doi.org/10.1007/s12161-012-9538-8>
- Muschler, R. G. (2001). Shade improves coffee quality in a sub-optimal coffee-zone of Costa Rica. *Agroforestry Systems*, 51(2), 131-139. <https://doi.org/10.1023/A:1010603320653>
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., and Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661–672. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>

- Narukawa, M., Kanbara, K., Tominaga, Y., Aitani, Y., Fukuda, K., Kodama, T., Murayama, N., Nara, Y., Arai, T., Konno, M., Kamisuki, S., Sugawara, F., Iwai, M., and Inoue, Y. (2009). Chlorogenic acid facilitates root hair formation in lettuce seedlings. *Plant and Cell Physiology*, *50*(3), 504–514. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp010>
- Noor Aliah, A.M., Fareez Edzuan, A. M. F. and Noor Diana, A. M. N. (2015). A review of quality coffee roasting degree evaluation. *Journal of Applied Science and Agriculture*, *10*(7) 18-23.
- Nugroho, D., Basunanda, P. and Mw, S. (2016). Physical bean quality of arabica coffee (*Coffea arabica*) cultivated at high and medium altitude. *Pelita Perkebunan*, *32*(3). <https://doi.org/10.22302/iccri.jur.pelitaperkebunan.v32i3.241>
- O’Keefe, J. H., Bhatti, S. K., Patil, H. R., Dinicolantonio, J. J., Lucan, S. C., and Lavie, C. J. (2013). Effects of habitual coffee consumption on cardiometabolic disease, cardiovascular health, and all-cause mortality. *Journal of the American College of Cardiology*, *62*(12), 1043–1051. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.06.035>
- Oestreich-Janzen, S. (2013). Chemistry of Coffee. In BT - Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Hamburg, Germany: Elsevier Inc. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.02786-4>
- Palmieri, M. G. S., Cruz, L. T., Bertges, F. S., Húngaro, H. M., Batista, L. R., da Silva, S. S., Fonseca, M. J. V., Rodarte, M. P., Vilela, F. M. P., and Amaral, M. P. H. do. (2018). Enhancement of antioxidant properties from green coffee as promising ingredient for food and cosmetic industries. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *16*, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.011>
- Patay, É. B., Bencsik, T., and Papp, N. (2016). Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *9*(12), 1127–1135. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.11.008>.
- Perfecto, I., Vandermeer, J., and Philpott, S. M. (2014). Complex Ecological Interactions in the Coffee Agroecosystem. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *45*(1), 137–158. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091923>
- Perrois, C., Strickler, S. R., Mathieu, G., Lepelley, M., Bedon, L., Michaux, S., Husson, J., Mueller, L., and Privat, I. (2015). Differential regulation of caffeine metabolism in *Coffea arabica* (Arabica) and *Coffea canephora* (Robusta). *Planta*, *241*, 179–191. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2170-7>
- Pezzopane, J. R. M., Pedro Júnior, M. J., Thomaziello, R. A., and Camargo, M. B. P. de. (2003). Coffee phenological stages evaluation scale. *Bragantia*, *62*(3), 499–505.
- Pohl, P., Stelmach, E., Welna, M., and Szymezy-Madeja, A. (2013). Determination of the elemental composition of coffee using instrumental methods. *Food Analytical Methods*, *6*(2), 598–613. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9467-6>
- Ramalakshmi, K., and Raghavan, B. (1999). Caffeine in Coffee: Its Removal. Why and How? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *39*(5), 441–456. [https://doi.org/10.1016/0168-583X\(94\)95456-9](https://doi.org/10.1016/0168-583X(94)95456-9)

- Ramalaskshmi, K., Kubra, I. R., and Rao, I. J. M. (2007). Physicochemical Characteristics of Green Coffee: Comparison of Graded and Defective Beans. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*, 72(5), 333-337. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00379.x>
- Ramalho, J. C., Pais, I. P., Leitão, A. E., Guerra, M., Reboredo, F. H., Máguas, C. M., Carvalho, M., Scotti-Campos, P., Ribeiro-Barros, A. I. R., Lidon, F. J. C. and, DaMatta, F. M. (2018). Can Elevated Air [CO<sub>2</sub>] Conditions Mitigate the Predicted Warming Impact on the Quality of Coffee, 9 (287), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00287>
- Reddick, J. F., Hesketh, A. H., Morar, S. H., and Bradshaw, D. J. (2009). An evaluation of factors affecting the robustness of colour measurement and its potential to predict the grade of flotation concentrate. *Minerals Engineering*, 22(1), 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2008.03.018>
- Robertson, D., Wade, D., Workman, R., Woosley, R. L., and Oates, J.A. (1981). Tolerance to the humoral and hemodynamic effects of caffeine in man. *The Journal of Clinical Investigation*, 67(4), 1111-1117. <https://doi.org/10.1172/JCI110124>
- Samoggia, A., and Riedel, B. (2018). Coffee consumption and purchasing behavior review: Insights for further research. *Appetite*, 129, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.07.002>
- Santato, A., Bertoldi, D., Perini, M., Camin, F and Larcher, R. (2012). Using elemental profiles and stable isotopes to trace the origin of green coffee beans on the global market. *Journal of Mass Spectrometry*, 47, 1132–1140. <https://doi.org/10.1002/jms.3018>.
- Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., and Iseki, K. (2011). In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 403(1–2), 136–138. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.035>
- Schenker, S. (2000). *Investigations on the hot air roasting of coffee beans*. Dissertação de Doutorado, EHT Zurich Research Collection, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland. <https://doi.org/10.3929/ethz-a-003889071>
- Şemen, S, Mercan, S, Yayla, M, and Açıkkol, M. (2017). Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. *Food Chemistry*, 215, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.176>
- Severini, C., Derossi, A., Ricci, I., Fiore, A. G, and Caporizzi, R. (2017). How much caffeine in coffee cup? Effects of processing operations, extraction methods and variables. In: J. N. Latosinska and M. Latosinska (Eds). *The Question of Caffeine*. (Cap. 3, 41 pp, 45-85). IntechOpen, <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69002>.
- Silva, C. F., Batista, L. R., Abreu, L. M., Dias, E. S., and Schwan, R. F. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, 25(8), 951–957. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.07.003>
- Silva, C. F., Schwan, R. F., Dias, E. S., and Wheals, A. E. (2000). Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 60, 251-260
- Silva, R. Ferreira da, Pereira, R. F. A., Borém, F. M., and Muniz, J. A. (2004). Qualidade do café-cereja descascado produzido na região sul de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, 28(6), 1367-1375. <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542004000600020>

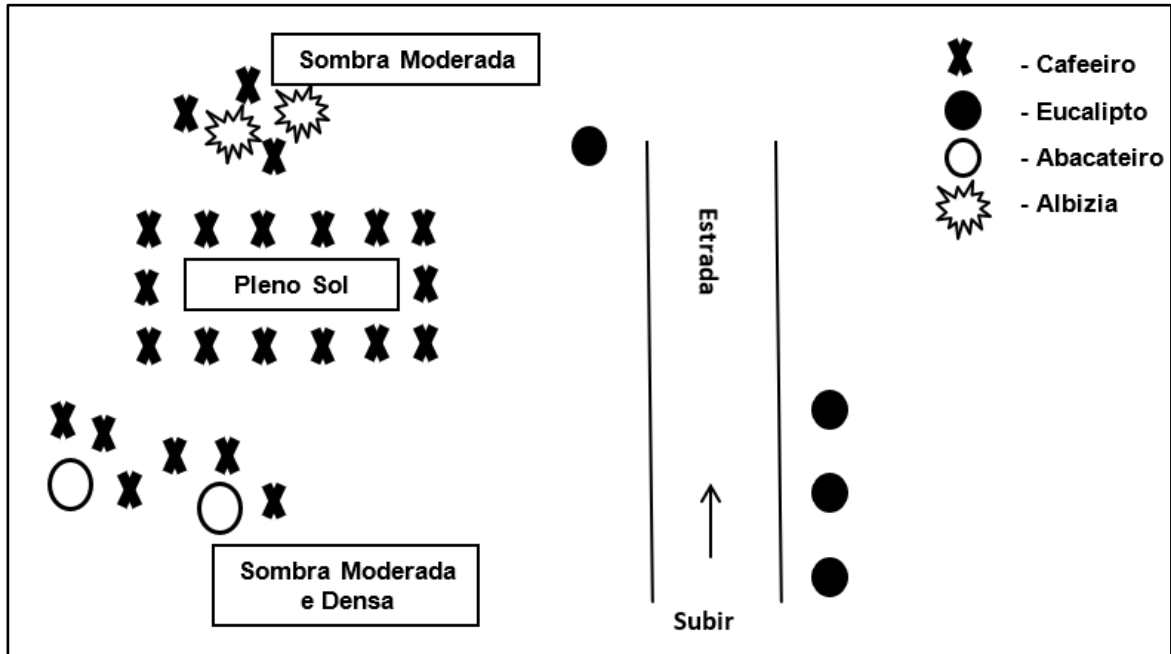
- Sitoe, A., Salomão, A., e Wertz-Kanounnikoff, S. (2012). *O contexto de REDD+ em Moçambique Causas, actores e instituições* (76th ed.). Bogor, Indonesia: CIFOR. 74 pp
- Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisut, P., and Siriamornpun, S. (2012). Effect of shading on yield, sugar content, phenolic acids and antioxidant property of coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor) harvested from north-eastern Thailand. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9), 1956–1963. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5568>
- Soto-Pinto, L., Perfecto, I., Castillo-Hernandez, J., and Caballero-Nieto, J. (2000). Shade effect on coffee production at the northern Tzeltal zone of the state of Chiapas, Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 80, 61-69.
- Sridevi, V. and Giridhar, P. (2013). Influence of altitude variation on trigonelline content during ontogeny of *Coffea canephora* Fruit. *Journal of Food Studies*, 2(1), 1-13. <http://dx.doi.org/10.5296/jfs.v2i1.3747>
- Steiman, S., Idol, T., Bittenbender, H. C., and Gautz, L. (2011). Shade coffee in Hawai'i - Exploring some aspects of quality, growth, yield, and nutrition. *Scientia Horticulturae*, 128(2), 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.01.011>
- Stelmach, E., Pohl, P. and Szymczycha-Madeja, A. (2015). The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. *Food Chemistry*, 182, 302–308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.105>.
- Sualeh, A., Endris, S., and Mohammed, A. (2014). Processing Method , Variety and Roasting Effect on Cup Quality of Arabica Coffee ( *Coffea arabica* L. ). *Journal of Agriculture and Food Sciences*, 2(2), 70–75
- Taveira, J.S., Borém, F. M., da Rosa, S. D. V. F., Oliveira, P. D., Giomo, G. S., Isquierdo, E. P., and Fortunato, V. A. (2015). Post-harvest effects on beverage quality and physiological performance of coffee beans. *African Journal of Agricultural Research*, 10(12), 1457-1466. <https://doi.org/10.5897/AJAR2014.9263>
- Teketay, D. (1999). History, botany and ecological requirements of coffee. *Walia*, 20, 28–50.
- Tolessa, K., D'heer, J. Duchateau, L., and Boeckx, P. (2016). Influence of growing altitude, shade and harvest period on quality and biochemical composition of Ethiopian specialty coffee. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 97(9), 2849-2857. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8114>
- Trugo, L. C., and Macrae, R. (1984). A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry*, 15, 219–227. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(84\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0308-8146(84)90006-2)
- Twongyirwe, R., Bithell, M., and Richards, K. S. (2018). Revisiting the drivers of deforestation in the tropics: Insights from local and key informant perceptions in western Uganda. *Journal of Rural Studies*, 63, 105–119. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2018.08.013>
- USDA (United States Department of Agriculture). (2018). *Coffee: world markets and trade*. Foreign Agricultural Service. 2018/19 Forecast Overview. Disponível em <http://www.fas.usda.gov/data/coffee-world-markets-and-trade>. Consultado em 18 de Setembro de 2018.
- Vaast, P., Bertrand, B., Perriot, J. J., Guyot, B., and Génard, M. (2006). Fruit thinning and shade improve

- bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2), 197–204. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2338>
- Valek, M., Laslavic, B., and Laslavic, Z. (2004). Daily caffeine intake among Osijek High School students: questionnaire study. *Croatian Medical Journal*, 45(1), 72–75
- van Oijen, M., Dauzat, J., Harmand, J. M., Lawson, G., and Vaast, P. (2010). Coffee agroforestry systems in Central America: I. A review of quantitative information on physiological and ecological processes. *Agroforestry Systems*, 80(3), 341–359. <https://doi.org/10.1007/s10457-010-9294-y>
- Veiga-Santos, P., Silva, L. T., de Souza, C. O., da Silva, J. R., Albuquerque, E. C. C., and Druzian, J. I. (2018). Coffee-cocoa additives for bio-based antioxidant packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 18, 37–41. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.08.005>
- Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., and Benassi, M. T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863–868. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.008>
- Vilela, D. M., Pereira, G. V. de M., Silva, C. F., Batista, L. R., and Schwan, R. F. (2010). Molecular ecology and polyphasic characterization of the microbiota associated with semi-dry processed coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Microbiology*, 27(8), 1128–1135. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.024>
- Vinícius de Melo Pereira, G., Soccol, V. T., Brar, S. K., Neto, E., and Soccol, C. R. (2017). Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2775–2788. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067759>
- Worku, M., de Meulenaer, B., Duchateau, L., and Boeckx, P. (2018). Effect of altitude on biochemical composition and quality of green arabica coffee beans can be affected by shade and postharvest processing method. *Food Research International*, 105, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.016>
- WWF (Fundo Mundial para Natureza). (2016). *Construído o futuro das áreas de conservação em Moçambique: primeiros passos para a sustentabilidade financeira*. Maputo. 8 pp.

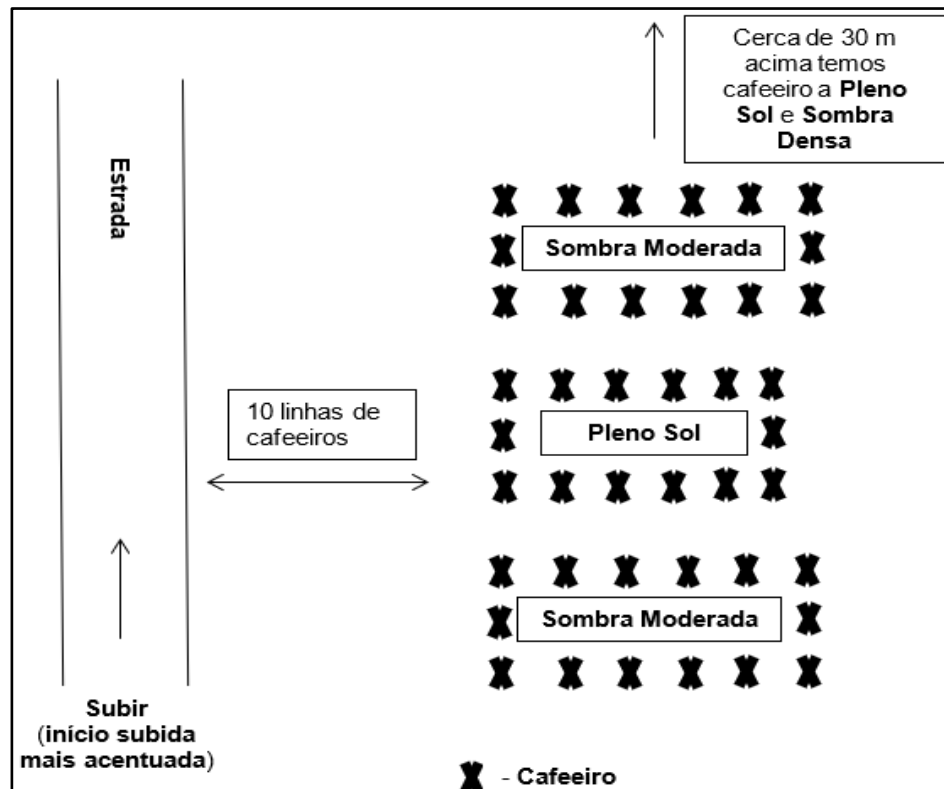
## VII. ANEXOS

**Anexo 1:** Representações esquemáticas das parcelas dos ensaios nas diferentes altitudes, e com os diferentes níveis de sombreamento.

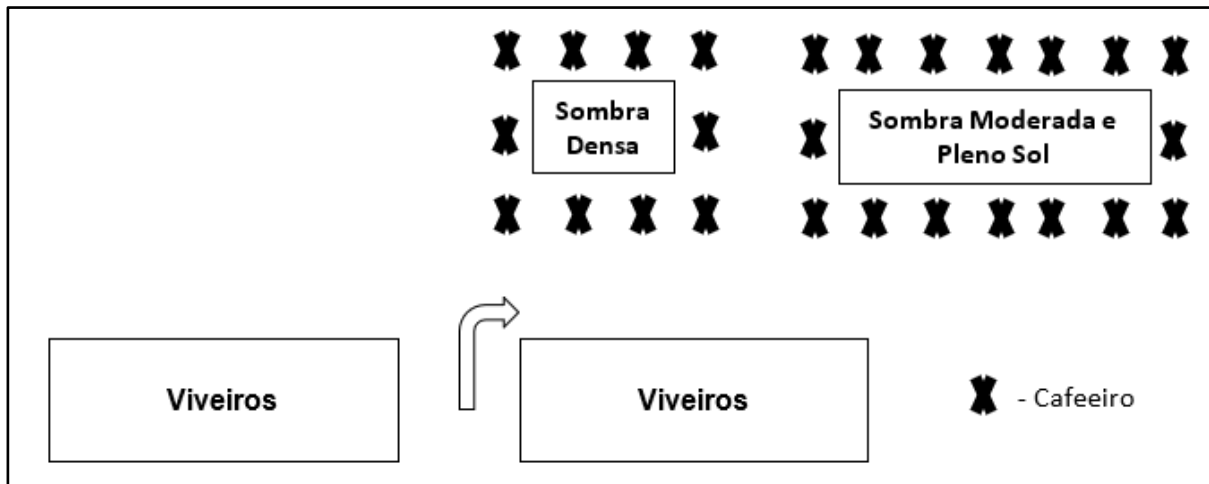
**Altitude 650 m** (Lat 18° 30'52.992"S; Long 34° 3'5.4"E) [A1]



**Altitude 825 m** (Lat 18° 30'3.636"S; Long 34° 2'58.236.4"E) [A2]

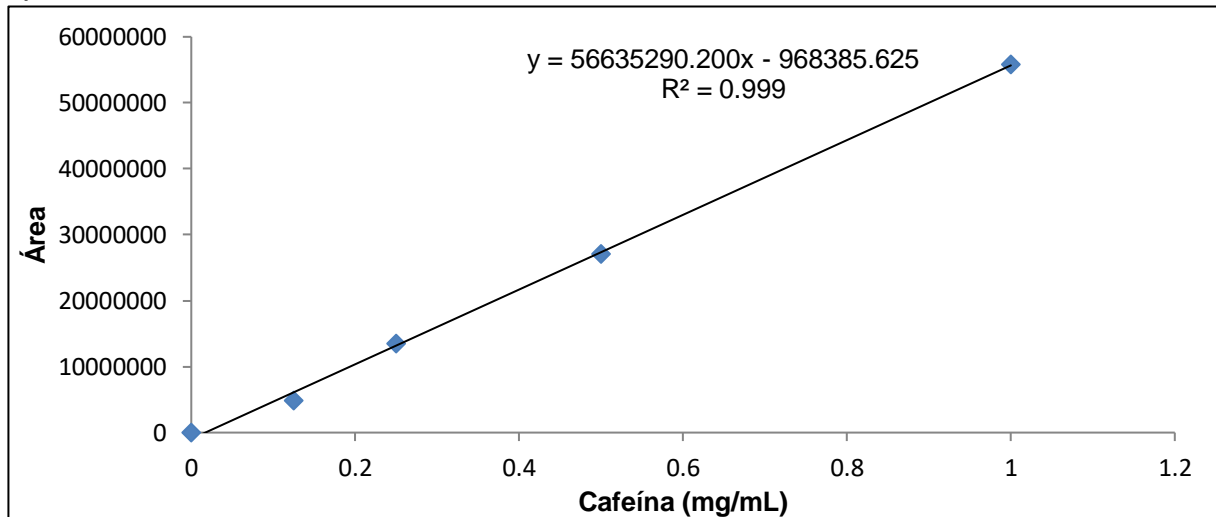


**Altitude 935 m** (Lat 18° 28'54.012"S; Long 34° 2'42.936"E)

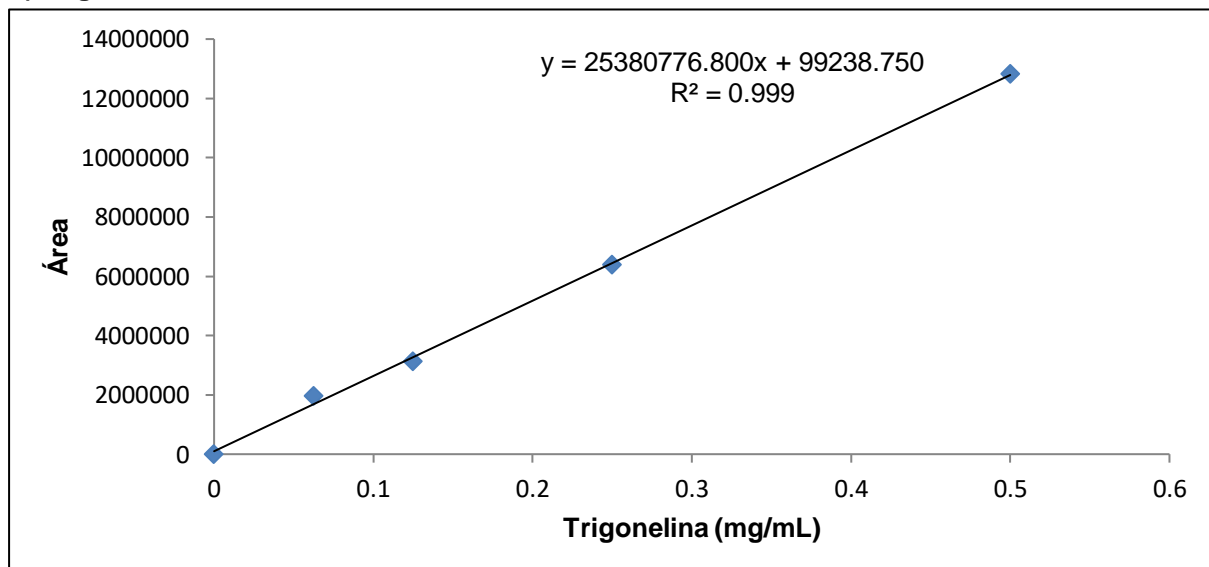


**Anexo 2:** Curvas-padrão, equação de regressão linear e o coeficiente de calibração usado para a quantificação dos diferentes compostos químicos.

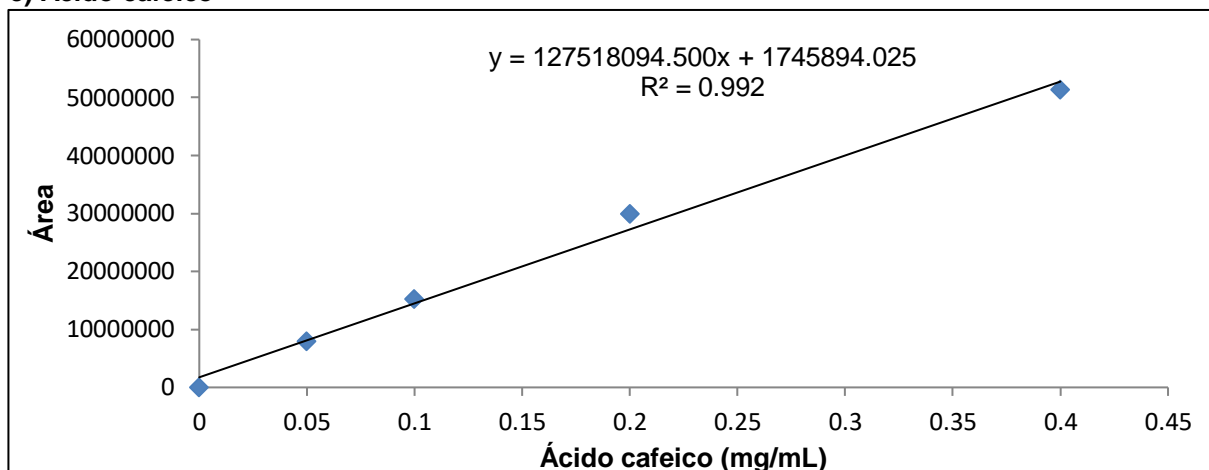
**a) Cafeína**



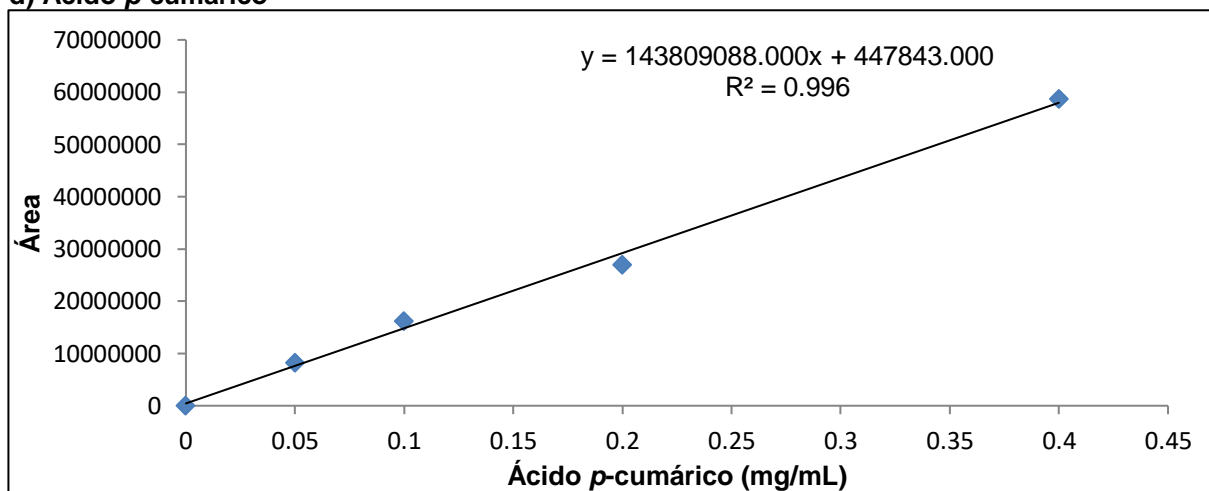
**b) Trigonelina**



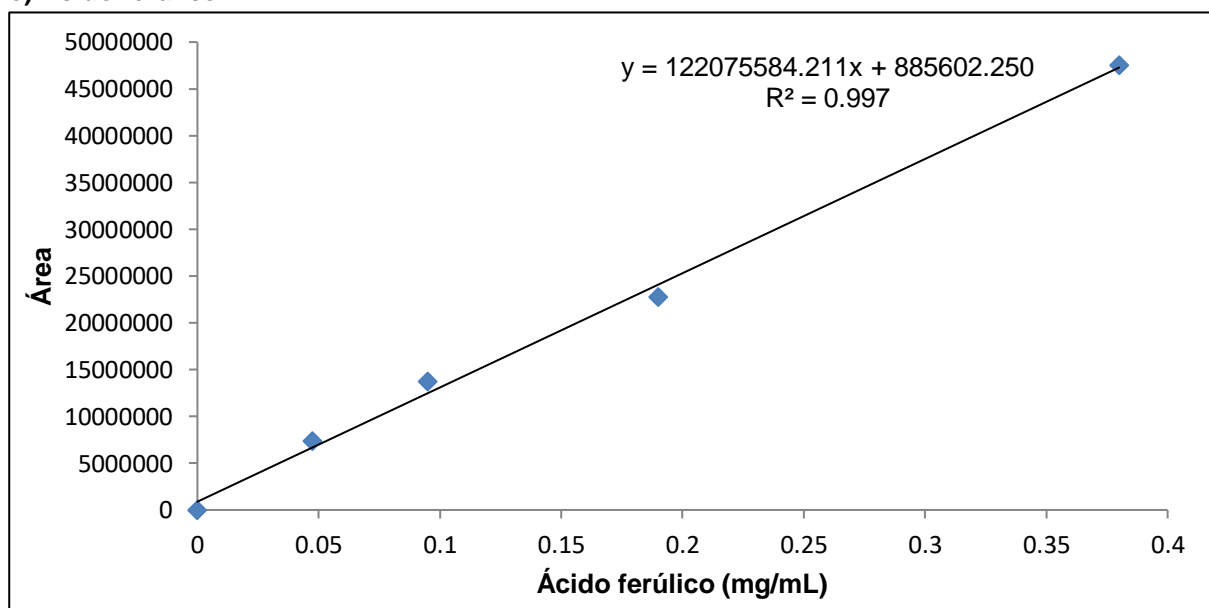
**c) Ácido cafeico**



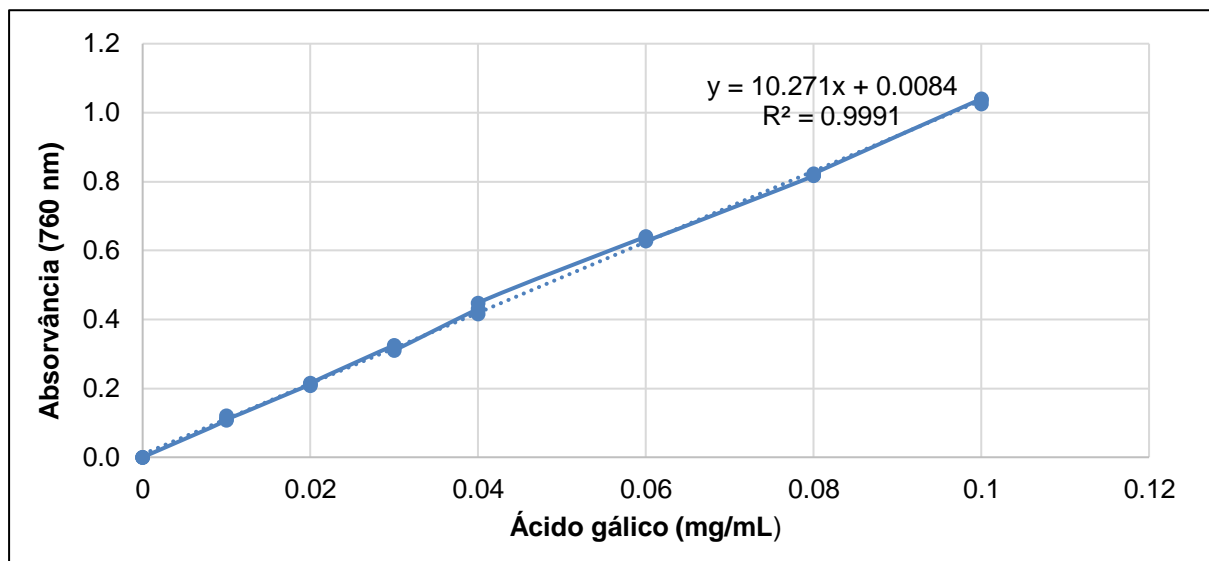
**d) Ácido p-cumárico**



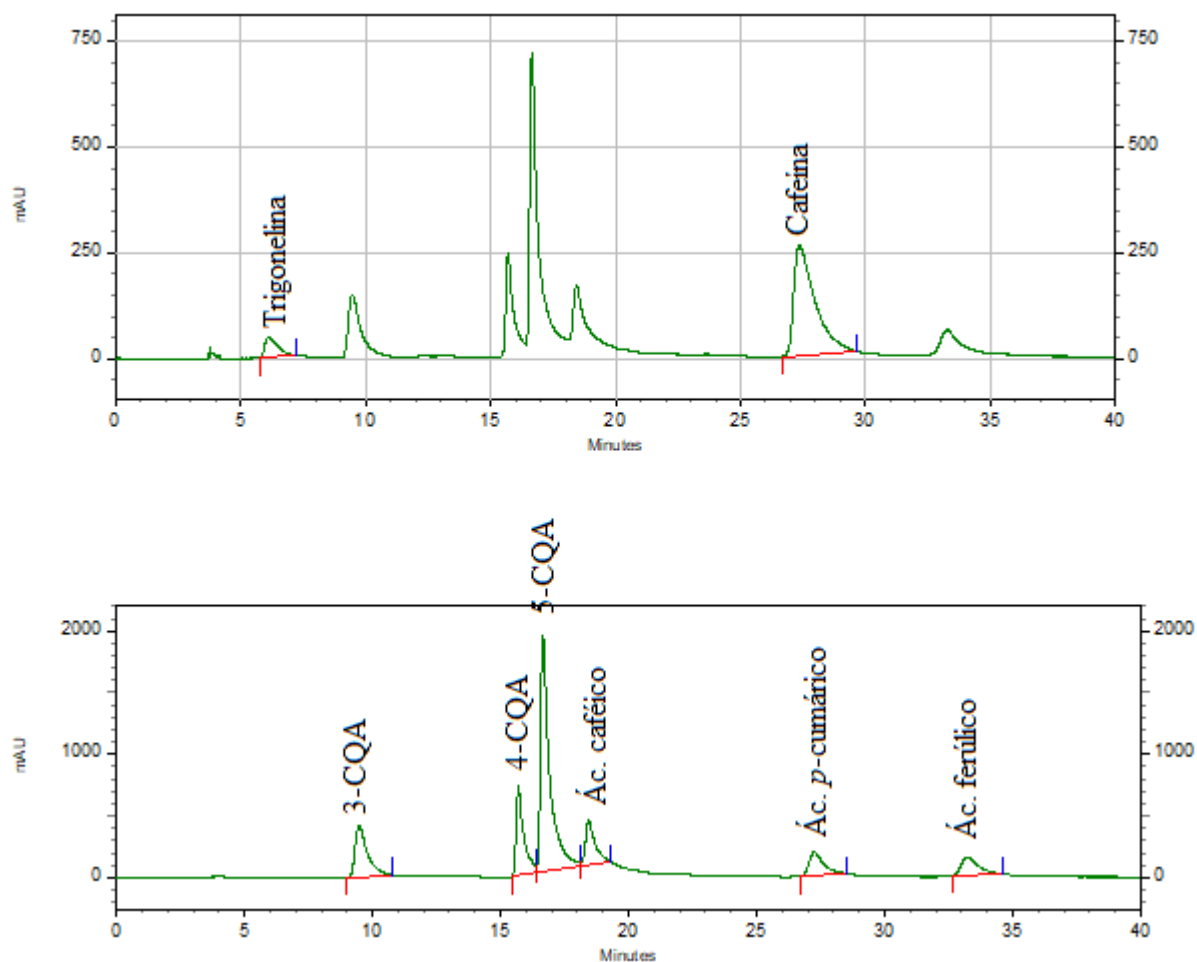
**e) Ácido ferúlico**



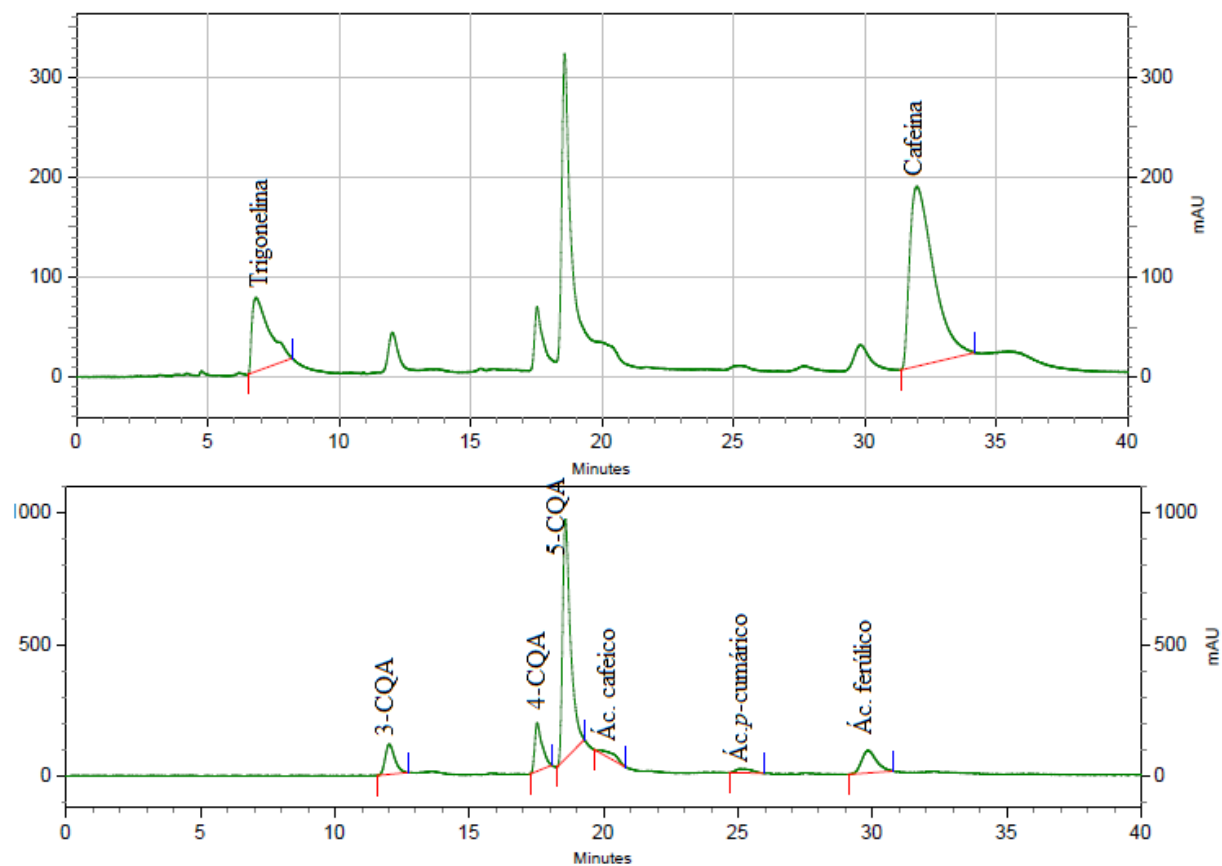
#### d) Fenóis totais



**Anexo 3:** Cromatograma exemplificativo da saída dos picos dos padrões dos compostos químicos trigonelina, cafeína, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico.



**Anexo 4:** Cromatograma exemplificativo de uma amostra de café com as saídas dos picos dos compostos químicos trigonelina, cafeína, 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, ácidos cafeico, *p*-cumárico e ferúlico.



**Anexo 5:** Análises de variância (ANOVAS) de factor duplo e os respectivos testes de Tukey dos dados obtidos

### 1. Massa de 100 grãos

#### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	<i>p</i> (same)
Altitude:	264.953	2	132.477	37.39	1.661E-08
Sombreamento:	7.83774	2	3.91887	1.106	0.3454
Interaction:	31.4149	4	7.85373	2.216	0.09385
Within:	95.6712	27	3.54338		
Total:	399.877	35			

#### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.3617	3.242E-08
825 m	0.3617		1.01E-06
935 m	3.242E-08	1.01E-06	

## 2. Densidade aparente

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	0.00237222	2	0.00118611	2.972	0.06814
<b>Sombreamento:</b>	0.000688889	2	0.000344444	0.8631	0.4332
<b>Interaction:</b>	0.00119444	4	0.000298611	0.7483	0.5678
<b>Within:</b>	0.010775	27	0.000399074		
<b>Total:</b>	0.0150306	35			

## 3. Luminosidade (L\*)

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	18.0168	2	9.00839	0.9491	0.3996
<b>Sombreamento:</b>	20.6689	2	10.3344	1.089	0.3509
<b>Interaction:</b>	23.4181	4	5.85452	0.6168	0.6543
<b>Within:</b>	256.268	27	9.49139		
<b>Total:</b>	318.371	35			

## 4. a\*

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	1.40074	2	0.700369	12.38	0.0001526
<b>Sombreamento:</b>	0.0777722	2	0.0388861	0.6876	0.5114
<b>Interaction:</b>	0.0596778	4	0.0149194	0.2638	0.8986
<b>Within:</b>	1.52697	27	0.0565546		
<b>Total:</b>	3.06516	35			

### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.02991	9.536E-05
825 m	0.02991		0.07955
935 m	9.536E-05	0.07955	

## 5. b\*

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	7.00112	2	3.50056	4.12	0.02745
<b>Sombreamento:</b>	0.7782	2	0.3891	0.4579	0.6374
<b>Interaction:</b>	1.87603	4	0.469008	0.552	0.6992
<b>Within:</b>	22.9413	27	0.849679		
<b>Total:</b>	32.5967	35			

### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.6332	0.1593
825 m	0.6332		0.02369
935 m	0.1593	0.02369	

## 6. Cromo (C\*)

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	$p$ (same)
Altitude:	7.27277	2	3.63639	4.284	0.02422
Sombreamento:	0.737272	2	0.368636	0.4342	0.6522
Interaction:	1.89036	4	0.47259	0.5567	0.6959
Within:	22.9204	27	0.848905		
Total:	32.8208	35			

### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.6739	0.1319
825 m	0.6739		0.02176
935 m	0.1319	0.02176	

## 7. Ângulo de tonalidade (H\*)

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	$p$ (same)
Altitude:	19.1023	2	9.55114	9.975	0.0005705
Sombreamento:	1.83724	2	0.918619	0.9594	0.3958
Interaction:	0.597278	4	0.149319	0.156	0.9586
Within:	25.8516	27	0.957466		
Total:	47.3884	35			

### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.01852	0.0004503
825 m	0.01852		0.3225
935 m	0.0004503	0.3225	

## 8. Cafeina

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	$p$ (same)
Altitude:	62.0301	2	31.0151	12.99	0.0001117
Sombreamento:	1.08155	2	0.540775	0.2265	0.7988
Interaction:	7.237	4	1.80925	0.7578	0.5618
Within:	64.4666	27	2.38765		
Total:	134.815	35			

### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.9917	0.0003573
825 m	0.9917		0.0004949
935 m	0.0003573	0.0004949	

## 9. Trigonelina

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	21.3322	2	10.6661	12.91	0.0001161
<b>Sombreamento:</b>	5.18341	2	2.5917	3.138	0.05952
<b>Interaction:</b>	13.4647	4	3.36617	4.076	0.01034
<b>Within:</b>	22.3002	27	0.825932		
<b>Total:</b>	62.2804	35			

### b) Teste de Tukey

		Q	p
650 m-0% Sombra	650 m-50% Somb	1.04	0.989
650 m-0% Sombra	650 m-100% Soml	1.766	0.8684
650 m-0% Sombra	825 m-0% Sombra	1.166	0.9801
650 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	2.179	0.7189
650 m-50% Somb	650 m-100% Soml	0.7262	0.9984
650 m-50% Somb	825 m-50% Somb	5.37	0.01177
650 m-50% Somb	935 m-50% Somb	0.5282	0.9997
650 m-100% Soml	825 m-100% Soml	4.682	0.03731
650 m-100% Soml	935 m-100% Soml	1.772	0.8668
825 m-0% Sombra	825 m-50% Somb	5.243	0.01464
825 m-0% Sombra	825 m-100% Soml	5.282	0.0137
825 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	1.012	0.9904
825 m-50% Somb	825 m-100% Soml	0.03851	1
825 m-50% Somb	935 m-50% Somb	4.842	0.02876
825 m-100% Soml	935 m-100% Soml	6.454	0.001692
935 m-0% Sombra	935 m-50% Somb	0.6107	0.9994
935 m-0% Sombra	935 m-100% Soml	2.184	0.7166
935 m-50% Somb	935 m-100% Soml	1.573	0.9187

## 10. 3-CQA

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	0.432717	2	0.216358	0.04907	0.9522
<b>Sombreamento:</b>	2.63182	2	1.31591	0.2985	0.7444
<b>Interaction:</b>	13.4204	4	3.35509	0.761	0.5598
<b>Within:</b>	119.039	27	4.40884		
<b>Total:</b>	135.524	35			

## 11. 4-CQA

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	0.0460056	2	0.0230028	0.006347	0.9937
<b>Sombreamento:</b>	2.23451	2	1.11725	0.3083	0.7373
<b>Interaction:</b>	5.87648	4	1.46912	0.4053	0.8031
<b>Within:</b>	97.8596	27	3.62443		
<b>Total:</b>	106.017	35			

## 12. 5-CQA

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	937.827	2	468.914	2.506	0.1004
Sombreamento:	143.334	2	71.6669	0.383	0.6855
Interaction:	548.314	4	137.079	0.7325	0.5777
Within:	5052.43	27	187.127		
Total:	6681.9	35			

## 13. CQAs Totais

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	891.407	2	445.703	3.196	0.05678
Sombreamento:	155.782	2	77.8908	0.5586	0.5785
Interaction:	613.472	4	153.368	1.1	0.3768
Within:	3765.19	27	139.451		
Total:	5425.85	35			

## 14. Ácido cafeico

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	0.124968	2	0.0624841	19.89	4.911E-06
Sombreamento:	0.002774	2	0.001387	0.4415	0.6477
Interaction:	0.0737168	4	0.0184292	5.866	0.001568
Within:	0.084831	27	0.00314189		
Total:	0.28629	35			

### b) Teste de Tukey

		Q	p
650 m-0% Sombra	650 m-50% Somb	2.275	0.6783
650 m-0% Sombra	650 m-100% Soml	5.682	0.006804
650 m-0% Sombra	825 m-0% Sombra	7.734	0.0001589
650 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	7.761	0.0001512
650 m-50% Somb	650 m-100% Soml	3.408	0.2332
650 m-50% Somb	825 m-50% Somb	5.531	0.008889
650 m-50% Somb	935 m-50% Somb	5.388	0.0114
650 m-100% Soml	825 m-100% Soml	1.293	0.9669
650 m-100% Soml	935 m-100% Soml	1.293	0.9669
825 m-0% Sombra	825 m-50% Somb	0.07136	1
825 m-0% Sombra	825 m-100% Soml	3.345	0.2515
825 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	0.02676	1
825 m-50% Somb	825 m-100% Soml	3.416	0.2307
825 m-50% Somb	935 m-50% Somb	0.1427	1
825 m-100% Soml	935 m-100% Soml	2.587	0.5411
935 m-0% Sombra	935 m-50% Somb	0.09812	1
935 m-0% Sombra	935 m-100% Soml	0.785	0.9976
935 m-50% Somb	935 m-100% Soml	0.6869	0.9988

## 15. Acido *p*-cumárico

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	<i>p</i> (same)
<b>Altitude:</b>	1.55795	2	0.778974	12.49	0.0001448
<b>Sombreamento:</b>	0.348532	2	0.174266	2.793	0.07897
<b>Interaction:</b>	0.688806	4	0.172202	2.76	0.04808
<b>Within:</b>	1.68455	27	0.0623908		
<b>Total:</b>	4.27984	35			

### b) Teste de Tukey

		Q	p
650 m-0% Sombra	650 m-50% Somb	1.271	0.9696
650 m-0% Sombra	650 m-100% Soml	3.897	0.1225
650 m-0% Sombra	825 m-0% Sombra	0.7306	0.9984
650 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	2.784	0.4558
650 m-50% Somb	650 m-100% Soml	5.169	0.01663
650 m-50% Somb	825 m-50% Somb	0.05805	1
650 m-50% Somb	935 m-50% Somb	1.948	0.8087
650 m-100% Soml	825 m-100% Soml	4.462	0.05294
650 m-100% Soml	935 m-100% Soml	7.216	0.0004146
825 m-0% Sombra	825 m-50% Somb	1.944	0.8102
825 m-0% Sombra	825 m-100% Soml	1.295	0.9667
825 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	3.515	0.2041
825 m-50% Somb	825 m-100% Soml	0.6486	0.9992
825 m-50% Somb	935 m-50% Somb	2.006	0.7874
825 m-100% Soml	935 m-100% Soml	2.754	0.4685
935 m-0% Sombra	935 m-50% Somb	0.4344	0.9999
935 m-0% Sombra	935 m-100% Soml	0.5345	0.9997
935 m-50% Somb	935 m-100% Soml	0.1001	1

## 16. Ácido ferúlico

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	<i>p</i> (same)
<b>Altitude:</b>	0.937115	2	0.468557	5.431	0.01042
<b>Sombreamento:</b>	0.107488	2	0.0537441	0.6229	0.5439
<b>Interaction:</b>	1.35543	4	0.338857	3.928	0.01222
<b>Within:</b>	2.32948	27	0.0862772		
<b>Total:</b>	4.72951	35			

**b) Teste de Tukey**

		<b>Q</b>	<b>p</b>
650 m-0% Sombra	650 m-50% Somb	2.438	0.607
650 m-0% Sombra	650 m-100% Soml	4.455	0.05353
650 m-0% Sombra	825 m-0% Sombra	4.455	0.05353
650 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	4.991	0.02244
650 m-50% Somb	650 m-100% Soml	2.017	0.7831
650 m-50% Somb	825 m-50% Somb	2.301	0.6667
650 m-50% Somb	935 m-50% Somb	2.565	0.5506
650 m-100% Soml	825 m-100% Soml	3.09	0.336
650 m-100% Soml	935 m-100% Soml	0.5056	0.9998
825 m-0% Sombra	825 m-50% Somb	0.2843	1
825 m-0% Sombra	825 m-100% Soml	3.09	0.336
825 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	0.5362	0.9997
825 m-50% Somb	825 m-100% Soml	3.374	0.2429
825 m-50% Somb	935 m-50% Somb	0.2638	1
825 m-100% Soml	935 m-100% Soml	3.595	0.1842
935 m-0% Sombra	935 m-50% Somb	0.01192	1
935 m-0% Sombra	935 m-100% Soml	0.03064	1
935 m-50% Somb	935 m-100% Soml	0.04256	1

**17. pH**

**a) ANOVA de factor duplo**

	<b>Sum of sqrs</b>	<b>df</b>	<b>Mean square</b>	<b>F</b>	<b>p (same)</b>
<b>Altitude:</b>	0.0453389	2	0.0226694	15.55	3.207E-05
<b>Sombreamento:</b>	0.0409556	2	0.0204778	14.05	6.572E-05
<b>Interaction:</b>	0.0129111	4	0.00322778	2.215	0.09405
<b>Within:</b>	0.03935	27	0.00145741		
<b>Total:</b>	0.138556	35			

**b) Teste de Tukey**

**1. Para altitude**

	<b>650 m</b>	<b>825 m</b>	<b>935 m</b>
<b>650 m</b>		1.974E-05	0.01059
<b>825 m</b>	1.974E-05		0.05846
<b>935 m</b>	0.01059	0.05846	

**2. Para sombreamento**

	<b>0% Sombra</b>	<b>50% Sombra</b>	<b>100% Sombra</b>
<b>0% Sombra</b>		0.1511	4.636E-05
<b>50% Sombra</b>	0.1511		0.00715
<b>100% Sombra</b>	4.636E-05	0.00715	

## 18. Acidez titulável

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	0.440972	2	0.220486	0.5482	0.5843
<b>Sombreamento:</b>	0.586806	2	0.293403	0.7295	0.4914
<b>Interaction:</b>	5.17361	4	1.2934	3.216	0.02783
<b>Within:</b>	10.8594	27	0.402199		
<b>Total:</b>	17.0608	35			

### b) Teste de Tukey

		Q	p
650 m-0% Sombra	650 m-50% Somb	1.38	0.9551
650 m-0% Sombra	650 m-100% Soml	4.533	0.04731
650 m-0% Sombra	825 m-0% Sombra	2.168	0.7233
650 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	0.7884	0.9975
650 m-50% Somb	650 m-100% Soml	3.154	0.3133
650 m-50% Somb	825 m-50% Somb	0.9855	0.9917
650 m-50% Somb	935 m-50% Somb	0.3942	1
650 m-100% Soml	825 m-100% Soml	4.336	0.0643
650 m-100% Soml	935 m-100% Soml	3.745	0.1512
825 m-0% Sombra	825 m-50% Somb	0.1971	1
825 m-0% Sombra	825 m-100% Soml	1.971	0.8003
825 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	1.38	0.9551
825 m-50% Somb	825 m-100% Soml	2.168	0.7233
825 m-50% Somb	935 m-50% Somb	0.5913	0.9995
825 m-100% Soml	935 m-100% Soml	0.5913	0.9995
935 m-0% Sombra	935 m-50% Somb	0.9855	0.9917
935 m-0% Sombra	935 m-100% Soml	0	1
935 m-50% Somb	935 m-100% Soml	0.9855	0.9917

## 19. Fenóis totais

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	44.9295	2	22.4648	12.24	0.0001644
<b>Sombreamento:</b>	20.2249	2	10.1124	5.511	0.009841
<b>Interaction:</b>	13.7264	4	3.4316	1.87	0.1447
<b>Within:</b>	49.5467	27	1.83506		
<b>Total:</b>	128.427	35			

### b) Teste de Tukey

#### 1. Para altitude

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.1589	0.000113
825 m	0.1589		0.01502
935 m	0.000113	0.01502	

## 2. Para sombreamento

	0% Sombra	50% Sombra	100% Sombra
0% Sombra		0.1178	0.007703
50% Sombra	0.1178		0.4482
100% Sombra	0.007703	0.4482	

## 20. Teor de sólidos solúveis

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	44.0212	2	22.0106	11.5	0.000244
<b>Sombreamento:</b>	1.03527	2	0.517636	0.2705	0.7651
<b>Interaction:</b>	36.8485	4	9.21212	4.813	0.004623
<b>Within:</b>	51.6769	27	1.91396		
<b>Total:</b>	133.582	35			

### b) Teste de Tukey

		Q	p
650 m-0% Sombra	650 m-50% Somb	4.601	0.0425
650 m-0% Sombra	650 m-100% Soml	4.362	0.06179
650 m-0% Sombra	825 m-0% Sombra	7.539	0.000228
650 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	4.883	0.02687
650 m-50% Somb	650 m-100% Soml	0.2385	1
650 m-50% Somb	825 m-50% Somb	0.5168	0.9998
650 m-50% Somb	935 m-50% Somb	1.619	0.9081
650 m-100% Soml	825 m-100% Soml	2.783	0.4565
650 m-100% Soml	935 m-100% Soml	1.767	0.8681
825 m-0% Sombra	825 m-50% Somb	2.421	0.6142
825 m-0% Sombra	825 m-100% Soml	0.3939	1
825 m-0% Sombra	935 m-0% Sombra	2.656	0.5106
825 m-50% Somb	825 m-100% Soml	2.028	0.7792
825 m-50% Somb	935 m-50% Somb	2.136	0.7364
825 m-100% Soml	935 m-100% Soml	4.55	0.04607
935 m-0% Sombra	935 m-50% Somb	1.901	0.8251
935 m-0% Sombra	935 m-100% Soml	2.288	0.6727
935 m-50% Somb	935 m-100% Soml	0.3867	1

## 21. Teor de Ca

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	13.8626	2	6.9313	19.64	5.439E-06
<b>Sombreamento:</b>	1.00252	2	0.501258	1.42	0.2592
<b>Interaction:</b>	3.42753	4	0.856883	2.427	0.07225
<b>Within:</b>	9.53085	27	0.352994		
<b>Total:</b>	27.8235	35			

b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.01172	3.08E-06
825 m	0.01172		0.01061
935 m	3.08E-06	0.01061	

22. Teor de K

a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	6.12185	2	3.06093	1.059	0.3609
Sombreamento:	9.43202	2	4.71601	1.631	0.2144
Interaction:	9.38833	4	2.34708	0.8117	0.5287
Within:	78.0693	27	2.89146		
Total:	103.012	35			

23. Teor de P

a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	0.192839	2	0.0964194	4.062	0.02869
Sombreamento:	0.00120556	2	0.000602778	0.02539	0.9749
Interaction:	0.0863778	4	0.0215944	0.9098	0.4723
Within:	0.640875	27	0.0237361		
Total:	0.921297	35			

b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.387	0.302
825 m	0.387		0.0219
935 m	0.302	0.0219	

24. Teor de S

a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	1.94782	2	0.973908	4.154	0.02674
Sombreamento:	0.568717	2	0.284358	1.213	0.3131
Interaction:	0.765267	4	0.191317	0.816	0.5262
Within:	6.3306	27	0.234467		
Total:	9.6124	35			

b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.1053	0.02729
825 m	0.1053		0.8014
935 m	0.02729	0.8014	

## 25. Teor de Si

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	0.193889	2	0.0969444	17.75	1.202E-05
Sombreamento:	0.0372222	2	0.0186111	3.407	0.04794
Interaction:	0.0311111	4	0.00777778	1.424	0.253
Within:	0.1475	27	0.00546296		
Total:	0.409722	35			

### b) Teste de Tukey

#### 1. Para altitude

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.0001986	2.18E-05
825 m	0.0001986		0.6889
935 m	2.18E-05	0.6889	

#### 2. Para sombreamento

	0% Sombra	50% Sombra	100% Sombra
0% Sombra		0.1488	0.8462
50% Sombra	0.1488		0.04934
100% Sombra	0.8462	0.04934	

## 26. Teor de CI

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	0.0370082	2	0.0185041	27.7	2.869E-07
Sombreamento:	0.000239056	2	0.000119528	0.179	0.8371
Interaction:	0.00298328	4	0.000745819	1.117	0.3692
Within:	0.0180337	27	0.000667917		
Total:	0.0582643	35			

### b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.02299	1.823E-07
825 m	0.02299		0.0002926
935 m	1.823E-07	0.0002926	

## 27. Teor de Mo

### a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Altitude:	25.2425	2	12.6213	3.889	0.03278
Sombreamento:	6.40002	2	3.20001	0.9861	0.3861
Interaction:	16.2581	4	4.06454	1.253	0.3128
Within:	87.6165	27	3.24505		
Total:	135.517	35			

b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.04087	0.08583
825 m	0.04087		0.934
935 m	0.08583	0.934	

28. Teor de Nb

a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	3.55161	2	1.7758	14.47	5.356E-05
<b>Sombreamento:</b>	0.0800222	2	0.0400111	0.3261	0.7246
<b>Interaction:</b>	0.340961	4	0.0852403	0.6946	0.6022
<b>Within:</b>	3.31318	27	0.12271		
<b>Total:</b>	7.28576	35			

b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.001484	5.968E-05
825 m	0.001484		0.4565
935 m	5.968E-05	0.4565	

29. Teor de Zr

a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	19.9822	2	9.99108	6.372	0.00541
<b>Sombreamento:</b>	4.20729	2	2.10364	1.342	0.2783
<b>Interaction:</b>	7.32848	4	1.83212	1.168	0.3467
<b>Within:</b>	42.334	27	1.56793		
<b>Total:</b>	73.8519	35			

b) Teste de Tukey

	650 m	825 m	935 m
650 m		0.005374	0.04085
825 m	0.005374		0.6711
935 m	0.04085	0.6711	

30. Teor de Rb

a) ANOVA de factor duplo

	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
<b>Altitude:</b>	65.1714	2	32.5857	0.8996	0.4186
<b>Sombreamento:</b>	146.79	2	73.3948	2.026	0.1514
<b>Interaction:</b>	101.516	4	25.379	0.7007	0.5983
<b>Within:</b>	977.96	27	36.2207		
<b>Total:</b>	1291.44	35			