INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO PERFIL QUÍMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Coffea canephora*

TUANE CRISTINA DA SILVA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO/2025

INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO PERFIL QUÍMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Coffea canephora*

TUANE CRISTINA DA SILVA

"Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal"

Orientadora: Profa. D.Sc. Daniela Barros de Oliveira

Coorientadora: D.Sc. Carolina Chaves Ramos

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO/2025

FICHA CATALOGRÁFICA
UENF - Bibliotecas
Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

S586 Silva, Tuane Cristina da.

INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO PERFIL QUÍMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Coffea canephora* / Tuane Cristina da Silva. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

100 f. : il.
Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.
Orientadora: Daniela Barros de Oliveira.
Coorientadora: Carolina Chaves Ramos.

1. Café. 2. Sazonalidade. 3. Metabólitos. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO PERFIL QUÍMICO DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Coffea canephora*

TUANE CRISTINA DA SILVA

"Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestra em Produção Vegetal"

Aprovada em 13 de fevereiro de 2025.

Comissão examinadora:

gov.br Documento assinado digitalmente
AMARO CHAVES RAMOS
Data: 01/03/2026 20:04:48-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Amaro Chaves Ramos (D.Sc., Ciências Naturais) – UNIFSJ

gov.br Documento assinado digitalmente
SILVIA MENEZES DE FARIA PEREIRA
Data: 02/03/2026 22:01:04-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Silvia Menezes Faria Pereira (D.Sc., Engenharia e Ciências dos Materiais) – UENF

gov.br Documento assinado digitalmente
RODRIGO RODRIGUES DE OLIVEIRA
Data: 18/03/2026 08:23:00-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Rodrigo Rodrigues de Oliveira (D.Sc., Química de Produtos Naturais) – UENF

gov.br Documento assinado digitalmente
DANIELA BARROS DE OLIVEIRA RIBEIRO
Data: 25/03/2026 17:33:46-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Daniela Barros de Oliveira (D.Sc., Química de Produtos Naturais) - UENF (orientadora)

Dedico este trabalho a Deus, à minha família e à memória da minha avó Maria Gessi da Silva, que me deixou um legado de força e perseverança, a quem expresso minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me sustentar ao longo de todo o curso de mestrado e por tudo que Ele faz em minha vida. Sem Ele, eu nada seria;

Agradeço à minha família, em especial à minha mãe, Isabel Cristina, por suas infinitas orações, que foram fundamentais para que eu chegasse até aqui; ao meu pai, Elson Soares; ao meu irmão, Thiago; e à minha sobrinha, Maria Alice, que trouxe alegria até nos dias mais difíceis. Agradeço também à Carina;

Agradeço à minha amada avó, Maria Gessi da Silva, que esteve ao meu lado em todos os momentos da minha vida e durante parte do mestrado. Seu legado de força e coragem me inspirou a concluir este sonho, por nós;

Agradeço ao meu noivo, Christian Ribeiro, pelo amor, cuidado, companheirismo e todas as palavras de carinho ao longo dessa jornada, sempre me incentivando a não desistir dos meus objetivos;

Agradeço à minha orientadora, Daniela Barros de Oliveira, por me aceitar como sua orientanda, por acreditar em mim e por toda a compreensão e orientação que fizeram total diferença em minha vida acadêmica. A você, minha eterna gratidão;

Agradeço à minha coorientadora, Carolina Chaves Ramos, pela constante ajuda, dedicação e companheirismo ao longo das etapas do trabalho. Obrigada por tudo, você foi um verdadeiro anjo em minha vida;

Agradeço à professora e amiga, Silvia Menezes Faria Pereira, por me apoiar em todas as etapas do experimento, pelas dicas e sugestões. Obrigada por ter sido incansável em me ouvir e ajudar nos momentos em que mais precisei;

Agradeço à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) pela oportunidade e pela concessão da bolsa durante todo o curso de mestrado;

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e a todos os professores que contribuíram de diversas formas para a minha formação acadêmica;

Agradeço ao professor Rodrigo Rodrigues de Oliveira por ter disponibilizado seu laboratório e materiais para a execução de parte do experimento;

Agradeço a minha amiga e parceira de laboratório Taynara Thais Manhães de Sousa por ter me apresentado o Laboratório e me incentivado a cursar o mestrado;

Agradeço aos meus grandes amigos de laboratório Emily Oliveira, Carolina Chaves Ramos, Pedro Carvalho e Lucas Martins, que tornaram tudo mais leve e fizeram os meus dias melhores;

Agradeço ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) e às profissionais técnicas Valdinéia E. P. de Sousa Ferreira e Ana Lúcia Paes Barbosa por sempre me auxiliarem com o empréstimo de equipamentos e materiais de laboratório;

Agradeço aos professores Henrique Duarte Vieira, do Laboratório de Fitotecnia (LFIT) e Alexandre Pio Viana do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV) pela parceria na pesquisa;

Agradeço aos meus amigos Wanderson Jr. Chagas, Larissa Manhães e Yara Gonçalves por torcerem por mim e por me proporcionarem uma amizade tão especial. Vocês foram essenciais para que eu não desistisse.

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

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1
2. OBJETIVOS 3
2.1 Objetivo geral 3
2.2 Objetivos específicos 3
3. REVISÃO DA LITERATURA 4
3.1 Origem e importância do gênero *Coffea* L. 4
3.1.1. *Coffea canephora* 5
3.2 Composição química do gênero *Coffea* L. 7
3.3 Influência da sazonalidade na composição química das espécies vegetais 16
3.4 Métodos cromatográficos 17
3.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante 19
4. MATERIAIS E MÉTODOS 22
4.1 Coleta e identificação do material vegetal 22
4.2 Preparo das amostras 23
4.3 Avaliação do perfil químico do extrato de folhas de diferentes genótipos de *Coffea canephora* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) 24
4.4 Identificação das substâncias por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução (CLUE-ESI-QTOF-MS) 25
4.5 Determinação do teor de fenólicos totais 27
4.5.1 Método de Folin-Ciocalteu 27
4.5.2 Método Fast Blue BB 28
4.6 Avaliação da atividade antioxidante 30
4.6.1 Método por sequestro do radical DPPH 30
4.6.2 Método FRAP 31
4.7 Análise Estatística 33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 34
5.1 – Perfil químico dos extratos aquosos de diferentes genótipos de *Coffea canephora* 34
5.2 Identificação de substâncias em *C. canephora* 42
5.3 Determinação do teor de fenólicos totais 46
5.3.1 Médodo de Folin-Ciocalteu 46

5.3.2 Método Fast Blue BB 48
5.4 – Atividade antioxidante 51
5.4.1 Por sequestro do radical DPPH 51
5.4.2 Potencial redutor de íons férricos (FRAP) 54
5.5 Relação entre o potencial antioxidante e o teor de fenólicos totais de *Coffea canephora* 57
5.6 Relação entre os genótipos, diversidade genética e perfil metabólico 59
6. CONCLUSÕES 61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 62
APÊNDICES 82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: *Coffea canephora*.....6
Figura 2: Estrutura química de metilxantinas identificadas no café.....7
Figura 3: Estrutura química de ácidos graxos identificados no café.....8
Figura 4: Estrutura química da Quercetina, flavonoide comumente identificado no café. 8
Figura 5**:** Principais ácidos que contribuem para a qualidade sensorial do café. 9
Figura 6: Estruturas químicas da trigonelina (1) e niacina (2). 10
Figura 7: Biossíntese dos ácidos fenólicos. Fonte: adaptado de Kaushik (2015).....11
Figura 8: Estruturas químicas dos ácidos fenólicos identificados no café. 12
Figura 9: Diterpenos mais comuns identificados no gênero *Coffea*. 13
Figura 10: Distribuição percentual das principais classes metabólicas presentes na espécie *Coffea canephora*.....15
Figura 11: Reação entre o radical DPPH e a molécula antioxidante.....20
Figura 12: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu LC-20A, do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (CCTA/UENF). 25
Figura 13: Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (Shimadzu UFLC) acoplado ao Espectrômetro de Massas (Bruker MicrOTOF-Q II), do Laboratório de Ciências Químicas (CCT/UENF).....26
Figura 14: Esquema para realização da análise de quantificação de teor de fenólicos totais, pelo método de Folin-Ciocalteu. 27
Figura 15: Esquema para realização da análise de quantificação de teor de fenólicos totais, pelo método Fast Blue BB. 29
Figura 16: Esquema para realização da análise de quantificação de teor de fenólicos totais, pelo método Fast Blue BB. 30
Figura 17: Ensaio de atividade antioxidante pelo método FRAP (adaptado de Urrea-Victoria et al., 2016). 32
Figura 18: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo AT (8) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).....36
Figura 19: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo L80 (14) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).....37
Figura 20: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo Bamburral (15) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno). 37

Figura 21: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo Peneirão (17) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno). 38
Figura 22: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo Z21 (25) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).....38
Figura 23: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo A1 (30) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).....39
Figura 24: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo LB1 (36) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).....39
Figura 25: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo de *Coffea arabica* (I: verão, II: inverno). 40
Figura 26: Espectro de absorção das substâncias sugeridas: (1) cafeína, (2) ácido clorogênico e (3) flavonoide. 42
Figura 27: Cromatograma de UV obtido a 254 e 320 nm por CLUE da amostra Peneirão (17) coletada no verão. 43
Figura 28: Concentração de fenólicos totais nas folhas de diferentes genótipos de *C. canephora*. 46
Figura 29: Curva padrão do ácido gálico para determinação do teor de fenólicos totais pelo método Fast Blue BB. 48
Figura 30: Concentração de fenólicos totais pelo método Fast Blue BB nas amostras de diferentes genótipos de *C. canephora*.....49
Figura 31: Inibição (%) do radical DPPH pelas amostras de *C. canephora* coletadas no verão e no inverno.....53
Figura 32: Curva padrão do ácido gálico utilizada na avaliação do potencial antioxidante pelo método FRAP.....55
Figura 33: Relação entre o potencial antioxidante por sequestro de radicais livres (método DPPH) e o teor de compostos fenólicos totais, determinados pelos métodos de Folin-Ciocalteu e Fast Blue BB.....58
Figura 34: Relação entre o potencial antioxidante por poder de redução de íons férricos (método FRAP) e o teor de compostos fenólicos totais, determinados pelos métodos de Folin-Ciocalteu e Fast Blue BB. 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Substâncias majoritariamente encontradas na espécie *C. canephora*. 14
Tabela 2: Identificação dos genótipos de *Coffea canephora* provenientes do município de Nova Venécia, ES - Brasil. 23
Tabela 3: Método utilizado: Gradiente de eluição – Bomba A: água ultrapura acidificada; Bomba B: Acetonitrila. 24
Tabela 4: Método utilizado: Gradiente de eluição – Bomba B: Acetonitrila. 26
Tabela 5: Tempo de retenção (TR) dos principais picos cromatográficos e área.....35
Tabela 6: Proposta de identificação das substâncias presentes na amostra Peneirão (17) de *C. canephora.* 45
Tabela 7: Teor de fenólicos totais determinados pelo método de Folin- Ciocalteu. ..47
Tabela 8: Teor de fenólicos totais determinados pelo método Fast Blue BB. 50
Tabela 9: Valores de inibição (%) do radical DPPH pelas amostras de *C. canephora* coletadas no verão. 51
Tabela 10: Valores de inibição (%) do radical DPPH pelas amostras de *C. canephora* coletadas no inverno. 52
Tabela 11: IC_{50} (µg/mL) dos extratos aquosos de *C. canephora* para o ensaio de DPPH•. 54
Tabela 12: Potencial antioxidante dos extratos de folhas de *C. canephora* avaliado pelo método FRAP. 56

RESUMO

SILVA, Tuane Cristina da; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2025; Influência da sazonalidade no perfil químico de diferentes genótipos de *Coffea canephora*; Orientadora: D.Sc. Daniela Barros de Oliveira.

Coffea canephora (café conilon) é uma das espécies mais cultivadas no Brasil. As folhas do cafeeiro, pouco utilizadas pela indústria, contêm substâncias bioativas cuja produção pode ser influenciada pelo genótipo e pela sazonalidade. Este estudo avaliou o efeito da variação sazonal e genotípica na produção de metabólitos e no potencial antioxidante das folhas de *C. canephora*. Foram analisados sete genótipos com alta variabilidade genética, com folhas coletadas no verão e inverno em Nova Venécia (ES). Os extratos aquosos foram caracterizados por CLAE-DAD e CLUE-ESI-QTOF-MS para identificação das substâncias. O potencial antioxidante foi avaliado pelos métodos DPPH e FRAP, e o teor de fenólicos totais determinado por Folin-Ciocalteu e Fast Blue BB. Nos cromatogramas de verão observou-se pico majoritário no tempo de retenção (TR) de 15 min, enquanto no inverno houve apenas esse pico. Os espectros de UV (200–325 nm) sugeriram a presença de substâncias fenólicas e cafeína. Foram propostas as identificações de ácido quínico, ácido clorogênico, ácido feruloilquínico, rutina e ácido dicafeoilquínico na amostra Peneirão (17) do verão. As amostras de verão apresentaram maior teor de fenólicos totais e maior potencial antioxidante em comparação às de inverno, com destaque para LB1 e Peneirão, observando-se correlação positiva entre fenólicos e atividade antioxidante. Os resultados indicam variações sazonais e genotípicas significativas, evidenciando as folhas de café como fonte natural de antioxidantes.

Palavras-chave: café; sazonalidade; metabólitos.

ABSTRACT

SILVA, Tuane Cristina da; M.Sc.; State University of Northern Rio de Janeiro Darcy Ribeiro; february 2025; Influence of seasonality on the chemical profile of different genotypes of *Coffea canephora*; Advisor: D.Sc. Daniela Barros de Oliveira.

Coffea canephora (Conilon coffee) is one of the most widely cultivated species in Brazil. The leaves of the coffee tree, rarely used by industry, contain bioactive substances whose production can be influenced by genotype and seasonality. This study evaluated the effect of seasonal and genotypic variation on the production of metabolites and the antioxidant potential of *C. canephora* leaves. Seven genotypes with high genetic variability were analyzed, with leaves collected in summer and winter in Nova Venécia (ES). The aqueous extracts were characterized by CLAE-DAD and CLUE-ESI-QTOF-MS for substance identification. Antioxidant potential was evaluated by the DPPH and FRAP methods, and total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu and Fast Blue BB. In the summer chromatograms, a major peak was observed at a retention time (RT) of 15 min, while in winter there was only this peak. The UV spectra (200–325 nm) suggested the presence of phenolic substances and caffeine. The identification of quinic acid, chlorogenic acid, feruloylquinic acid, rutin, and dicaffeoylquinic acid was proposed in the summer Peneirão sample (17). The summer samples had a higher total phenolic content and greater antioxidant potential compared to the winter samples, with LB1 and Peneirão standing out, and a positive correlation between phenolics and antioxidant activity was observed. The results indicate significant seasonal and genotypic variations, highlighting coffee leaves as a natural source of antioxidants.

Keywords: coffee; seasonality; metabolites.

1. INTRODUÇÃO

O café, pertencente ao gênero *Coffea*, encontra-se entre as bebidas mais consumidas diariamente no mundo, principalmente no Brasil. A produção global de café entre outubro de 2023 e setembro de 2024 foi de 169,2 milhões de sacas de 60 quilos, sendo 56,6% da produção global da espécie *Coffea arábica* e 43,4% da espécie *Coffea canephora*, e o consumo alcançou 167,5 milhões de sacas (Brasil, 2024).

O Brasil é o maior produtor de café do mundo e segundo o maior consumidor global (Conab, 2024). Assim, é inegável a importância do café na economia mundial, sendo a sua cultura uma atividade agrícola essencial na criação de empregos, distribuição de recursos e exportação, desempenhando um papel essencial no contexto econômico do Brasil (Nicikava; Ferrarezi Jr., 2022).

O gênero *Coffea* pertence à família Rubiaceae, a qual engloba mais de 100 espécies distintas. Destacam-se, devido ao intenso comércio, as espécies *C. arabica* e *C. canephora* (Alves, 2021).

A espécie *Coffea canephora*, também conhecida como café robusta e conilon, trata-se de uma planta proveniente da África Ocidental e extensamente produzida em países como Brasil, Vietnã e Indonésia. A planta, de espécie perene e porte arbustivo, é caracterizada por caules lenhosos, folhas elípticas com bordas onduladas, flores brancas e frutos de coloração amarela (Davis et al., 2018). Uma das principais características de *C. canephora* é sua capacidade de resistir a patógenos e insetos, o que a torna uma alternativa atrativa para agricultores. Essa variedade apresenta um teor de cafeína mais alto em relação ao café arábica, resultando em um sabor mais intenso e amargo (Silva et al., 2020).

O café contém compostos bioativos que conferem propriedades funcionais à bebida, despertando o interesse dos consumidores devido aos seus efeitos benéficos à saúde. A cafeína, por exemplo, é uma substância estimulante que pode aumentar a capacidade de foco e a *performance* cognitiva, além de reduzir a fadiga. Pesquisas também indicam que a cafeína pode ter efeitos preventivos contra condições neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer (Paiva, 2022).

A planta é rica em compostos antioxidantes, como o ácido clorogênico, que possui propriedades anti-inflamatórias e pode proteger contra doenças crônicas, incluindo problemas cardíacos e diabetes tipo 2 (Yan et al., 2020; Girsang et al., 2021).

A atividade antioxidante desses compostos deve-se à sua capacidade de neutralizar radicais livres, prevenindo danos às células e fortalecendo as defesas do organismo contra processos oxidativos (Molaei et al., 2023). Além disso, o café contém outros compostos bioativos, como trigonelina, cafestol e kahweol, que contribuem para o aroma da bebida e podem ajudar na prevenção de câncer hepático e colorretal (Eldesouki, 2022).

Diversos fatores podem influenciar a composição metabólica do cafeeiro, incluindo a espécie, o genótipo e os fatores ambientais, como a sazonalidade. Entre esses fatores, a sazonalidade desempenha um papel crucial na modulação do perfil químico dos vegetais. Essas variações sazonais podem impactar significativamente a qualidade sensorial e o valor nutricional do café, evidenciando a importância de compreender os efeitos das mudanças sazonais no desenvolvimento e na composição química da planta (Amaral et al., 2006; Kreis et al., 2017).

Grande parte das pesquisas sobre o perfil químico do café se concentram em suas sementes, e os estudos acerca da composição química das folhas do cafeeiro são pouco disseminados (Segheto, 2017). Neste contexto, é de suma importância compreender a influência da sazonalidade no perfil químico das folhas de diferentes genótipos de *Coffea canephora*, principalmente na bioprodução de metabólitos secundários como a cafeína, polifenóis, e compostos antioxidantes, que podem trazer benefícios variados para a saúde humana e agregar valor aos subprodutos provenientes da indústria cafeeira (Patay, 2016).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O estudo teve como objetivo caracterizar o perfil químico de diferentes genótipos de *Coffea canephora* e verificar a influência da sazonalidade na produção de substâncias bioativas pela planta.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o perfil químico do extrato das folhas de *Coffea canephora*, com enfoque sobre as substâncias fenólicas, utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);

- Comparar de forma qualitativa o perfil químico dos diferentes genótipos, e entre as amostras coletadas nos períodos de inverno e verão;

- Determinar o teor de compostos fenólicos totais presentes nas amostras utilizando os métodos de Folin-Ciocalteu e Fast Blue BB;

- Investigar a atividade antioxidante dos extratos de folhas de diferentes genótipos de *Coffea canephora* coletados em distintas épocas, utilizando os métodos DPPH e FRAP;

- Identificar os metabólitos presentes no extrato aquoso das folhas de *C. canephora* por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução (CLUE-ESI-QTOF-MS);

- Analisar a relação entre os genótipos, a diversidade genética e o perfil metabólico das amostras.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Origem e importância do gênero *Coffea* L.

As espécies de café pertencem ao gênero *Coffea*, família Rubiaceae, são originárias da África e tiveram sua primeira evidência de cultivo na Etiópia. Com o passar do tempo, o cultivo se espalhou para a região do Caribe, América Central e determinadas áreas da América do Sul (Small, 2009). A chegada do café ao Brasil, por meio do Sargento-Mor Francisco e Mello Palheta, ocorreu no ano de 1727, e o cultivo logo se expandiu, devido às condições apropriadas do solo e do clima do país (Mapa, 2017).

Existem cerca de 103 espécies catalogadas no gênero *Coffea*. As espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (popularmente conhecida como conilon ou robusta), são as mais cultivadas e comercializadas, sendo a *Coffea arabica* mais conhecida e muito utilizada na produção de cafés “gourmet”, justificado por apresentar atributos sensoriais diferenciados (ABIC, 2021).

As regiões produtoras de café no Brasil estão predominantemente concentradas nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rondônia, Paraná, Bahia e São Paulo, com ênfase para o estado de Minas Gerais, sendo este o maior produtor nacional, contribuindo com aproximadamente metade da produção total do país. Tal destaque no cultivo e na industrialização do café deve-se ao estabelecimento de uma rede bem estruturada, formada por cooperativas e associações de cafeicultores, o que trouxe grande avanço para a cafeicultura (Conab, 2022).

A maior parte das culturas de café corresponde à espécie *Coffea arabica*, uma espécie cultivada em quatro regiões distintas: Sul de Minas, Cerrado de Minas, Chapada de Minas e Matas de Minas. O envio das exportações de café para portos localizados em Santos, Rio de Janeiro e Vitória, são provenientes das áreas mencionadas. É válido destacar que o estado de Rondônia é o único que produz somente o café conilon (*Coffea canephora*), porém, é o estado do Espírito Santo que tem a maior produção nacional dessa variedade de café (OIC, 2024).

De acordo com Guerra e colaboradores (2021), o Brasil passou a ser de considerável importância na produção de conhecimento científico relacionado ao café, com uma produção ativa através de pesquisas e inovação. Recentemente é possível observar uma significativa abundância de estudos científicos referentes ao café.

Logo, é evidente a importância desse produto, principalmente como sementes de alto valor comercial e nutricional, estando também associado a estudos na área da saúde, o que pode ter relação com a presença de compostos fenólicos, enfatizando os flavonoides e ácidos fenólicos (Wu et al., 2022).

3.1.1. *Coffea canephora*

A espécie *Coffea canephora* é alógama e auto incompatível, ou seja, necessita de polinização cruzada, que é a transferência de pólen de uma planta para outra, para que ocorra a reprodução. A autopolinização, que envolve a transferência de pólen de determinada planta para si mesma, não é possível nessa espécie devido a sua autoincompatibilidade. Essa característica contribui para a variabilidade genética da espécie (Moraes et al., 2018).

C. canephora é uma espécie perene, de porte arbustivo, que apresenta caules lenhosos, podendo alcançar 5 m de altura, a depender do clima. Suas folhas são elípticas, lanceoladas, ovaladas, duras e coriáceas. As flores dessa espécie de cafeeiro são de cor branca, surgem por inflorescência e por axila foliar. Os frutos caracterizam-se por bagas ovais de coloração verde e ao amadurecer assumem coloração vermelha ou amarela. No interior de cada fruto há a presença de duas sementes, conhecidas como grãos de café, apresentando um tamanho menor em relação às sementes de *Coffea arabica* (Mota et al., 1997; Belan et al., 2011).

Ademais, esta espécie possui características botânicas que combinam as variedades Conilon e Robusta. A variedade Robusta é caracterizada por ter um maior porte, além de apresentar uma resistência mais elevada à ferrugem e maior potencial para produção de uma bebida de qualidade superior. Por outro lado, o Conilon é uma variedade de porte reduzido e demonstra uma maior tolerância ao estresse hídrico em comparação com a Robusta (Oliveira et al., 2018). A figura 1 mostra a planta de café da espécie *Coffea canephora*, com suas folhas e frutos em evidência.



Figura 1: *Coffea canephora*

No Brasil, o estado do Espírito Santo se destaca na produção de *Coffea canephora*, tendo os municípios de Linhares, Rio Bananal, São Mateus, Nova Venécia, Colatina e Governador Lindemberg como os maiores produtores de café dessa espécie (IBGE, 2023). No estado do Rio de Janeiro, a produção de *C. canephora* é enfatizada nas regiões Norte e Noroeste, devido ao clima e solo favoráveis ao cultivo da espécie (PEDSCF, 2018).

A espécie *Coffea canephora* apresenta uma alta concentração de sólidos solúveis, especialmente em seus grãos, o que a torna amplamente utilizada na indústria de café solúvel (Brige et al., 2019). Sua utilização também é observada em torrefadoras, onde é realizada a combinação com o café arábica por meio de *blends*, por questões sensoriais e visando a redução de custos, uma vez que a *C. canephora* possui um valor de mercado menor (Seremet, 2022).

No entanto, alguns estudos acerca da espécie *Coffea canephora*, tem-se observado uma apreciação crescente em relação à qualidade da bebida proveniente desta espécie de cafeeiro, devido às suas notáveis características aromáticas e sensoriais. Tais características são definidas por uma bebida mais densa, com menor

teor de doçura, menor nível de acidez, mais amarga e devido ao seu maior teor de fenólicos em relação ao *Coffea arabica* (Embrapa, 2019).

Segundo Fonseca e colaboradores (2022), com o aumento da busca por informações sobre *Coffea canephora*, tornam-se necessárias pesquisas adicionais sobre a espécie, incluindo estudos acerca da composição química das folhas, cuja investigação foi até o presente momento pouco evidenciada devido ao foco predominante nas sementes, que já possuem extensas pesquisas em andamento.

3.2 Composição química do gênero *Coffea* L.

O gênero *Coffea* tem sido alvo de extensa pesquisa e o café conhecido por conter uma considerável variedade de compostos químicos que estão associados ao seu aroma e sabor, sendo importantes para a caracterização e classificação dessa bebida (Lemos et al., 2020). Além de tais propriedades sensoriais, o café é uma fonte abundante de compostos bioativos, que podem ser encontrados tanto nos grãos quanto nas folhas (Chen, 2019).

Os grãos de café são fontes ricas em diversos compostos bioativos que desempenham papéis importantes na saúde e no sabor da bebida. Entre esses compostos, destacam-se metilxantinas, incluindo a cafeína, a teofilina e a teobromina, que são responsáveis por muitos dos efeitos estimulantes associados ao consumo de café (Pagliari et al., 2022). A Figura 2 mostra as estruturas das metilxantinas mencionadas.

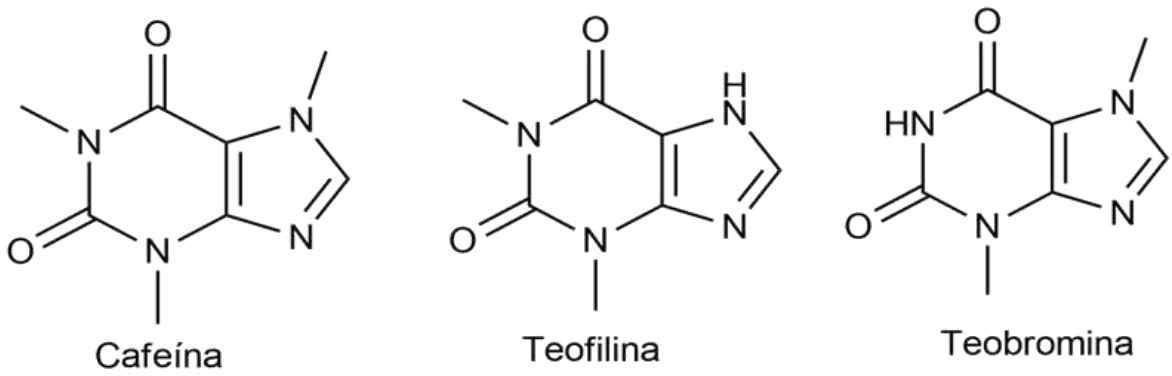


Figura 2: Estrutura química de metilxantinas identificadas no café.

Além disso, os grãos de café contêm ácidos graxos, cuja concentração e tipos específicos podem variar. O ácido linoleico e o ácido palmítico estão presentes em

pequenas proporções no café (Figura 3) (Sanches et al., 2020).

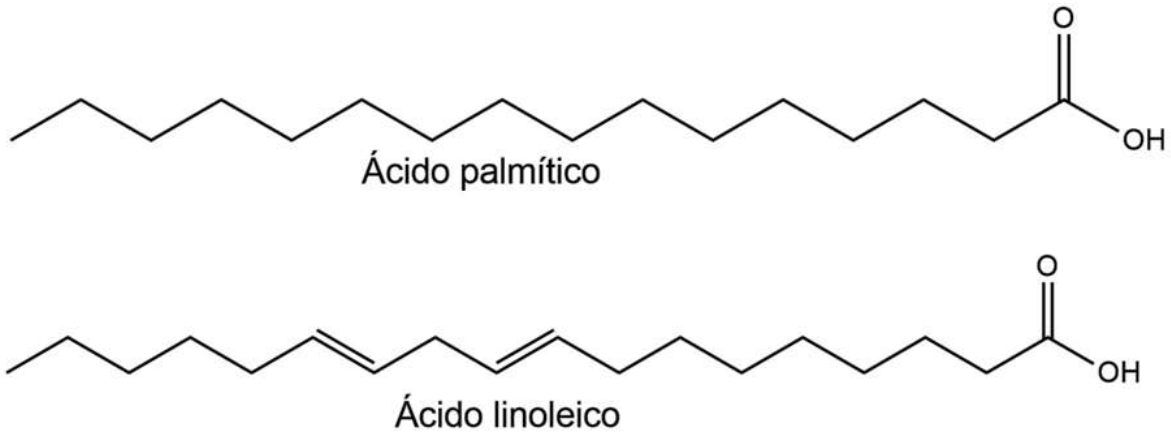


Figura 3: Estrutura química de ácidos graxos identificados no café.

Outro grupo significativo de compostos presentes nos grãos de café são os ácidos fenólicos, que incluem o ácido clorogênico, o ácido cafeico e o ácido ferúlico. Esses ácidos possuem propriedades antioxidantes e podem contribuir para benefícios à saúde associados ao consumo de café. Além disso, a trigonelina, proteínas e taninos também estão presentes, complementando a rica composição química dos grãos (Dewick, 2009).

É importante ressaltar a presença de outros ácidos, como os ácidos benzoico, cinâmico e ascórbico, bem como os flavonoides, com ênfase na quercetina. Esses compostos não apenas influenciam o perfil sensorial do café, mas também têm sido objeto de estudos por suas potenciais propriedades benéficas à saúde (Nzekoue, 2005; Ross, 2005; Farah, 2006). A Figura 4 mostra a estrutura da Quercetina.

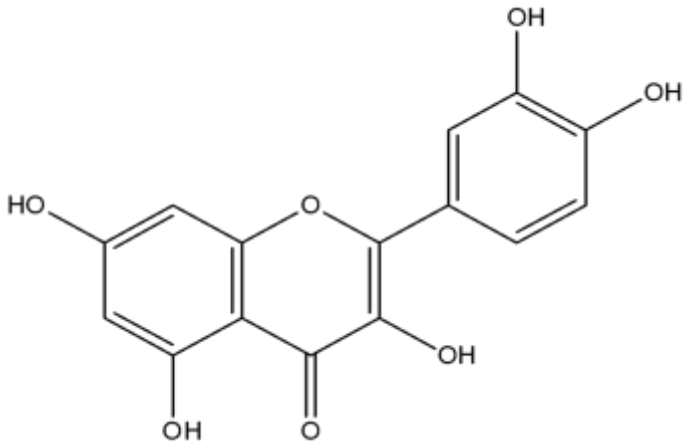


Figura 4: Estrutura química da Quercetina, flavonoide comumente identificado no café.

As folhas do cafeeiro contêm uma gama variada de compostos que também estão presentes nos grãos de café, embora em concentrações distintas. Essa diversidade de compostos é responsável por oferecer potenciais benefícios à saúde. Dentre os compostos encontrados nas folhas do café, destacam-se o ácido clorogênico e seus derivados, as metilxantinas, os diterpenos e a trigonelina que são amplamente reconhecidos por suas propriedades biológicas benéficas para a saúde humana. Essas substâncias não apenas contribuem para os efeitos positivos à saúde, mas também desempenham um papel importante nas características sensoriais do café (Nascimento, 2022).

Um indicador de qualidade do café é a acidez, que é capaz de influenciar no aroma e sabor da bebida. Os ácidos cítrico, quínico e málico se destacam como as principais moléculas que contribuem para a acidez do café e quanto maior o teor desses ácidos, maior é a qualidade do produto (Messina et al., 2015; Ciaramelli et al., 2019). A Figura 5 mostra os ácidos: cítrico, quínico e málico.

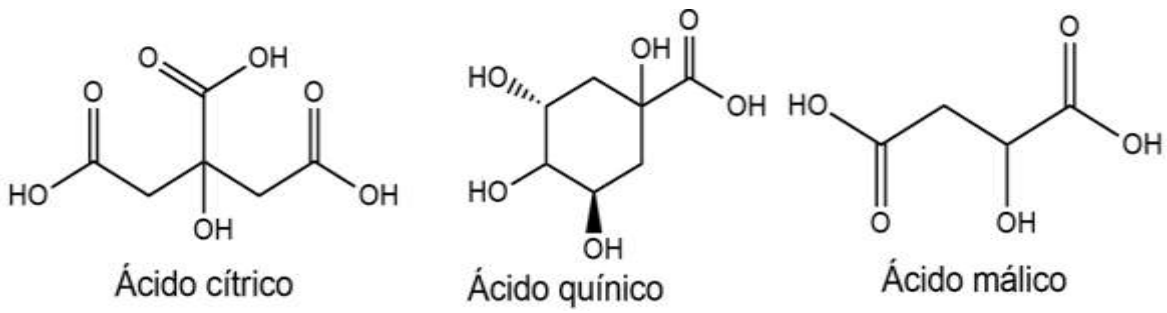


Figura 5**:** Principais ácidos que contribuem para a qualidade sensorial do café.

A primeira substância química identificada no café foi a cafeína (1,3,7-trimetilxantina), descoberta na Alemanha em 1820 (Embrapa, 2023). Esta substância é classificada como um alcaloide purínico (Dewick, 2009) do grupo das metilxantinas (Silva et al., 2018). A trigonelina é um alcaloide vegetal derivado da vitamina B6, e que também pode ser encontrado no café. Durante o processo de torra, parte desse alcaloide se decompõe e origina outras substâncias, incluindo a niacina (conhecida como vitamina B3), um nutriente importante para o corpo humano (Godos et al., 2014). A Figura 6 ilustra as estruturas químicas da trigonelina e niacina.

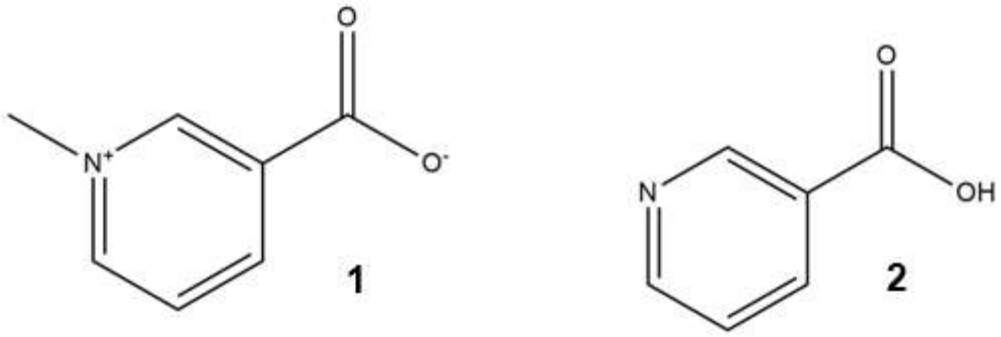


Figura 6: Estruturas químicas da trigonelina (1) e niacina (2).

A cafeína é o principal psicoativo presente no café, por isso a sua ingestão deve ser moderada, e o seu consumo consciente tem sido associado a melhorias na *performance* cognitiva e psicomotora dos seus consumidores, como aumento do estado de alerta, maior disposição e melhorias na concentração. É importante ressaltar que esses efeitos podem variar de pessoa para pessoa a depender do metabolismo e sensibilidade individual. É necessário considerar que consumir cafeína em excesso pode desencadear efeitos indesejados como insônia, ansiedade, palpitações cardíacas e náusea (Nehlig, 2016; Safe, 2023).

O mecanismo de ação da cafeína ocorre devido à sua semelhança estrutural com a adenosina, um nucleosídeo que atua como modulador do sistema nervoso central (EMBRAPA, 2003). Ao ligar-se aos receptores de adenosina, a cafeína bloqueia-os, impedindo seus efeitos inibitórios e estimulando a liberação de neurotransmissores excitatórios (Fredhom,1999).

Os compostos fenólicos, por sua vez, são derivados do metabolismo secundário das plantas e representam os principais antioxidantes identificados na alimentação (Karac, 2019). Kaushik (2015) relata que a L-fenilalanina e a L-tirosina são precursoras de muitos produtos naturais, nos quais a eliminação da amônia dos percursores é a primeira etapa da biossíntese desses compostos em plantas. A biossíntese dos ácidos fenólicos é demonstrada na Figura 7.

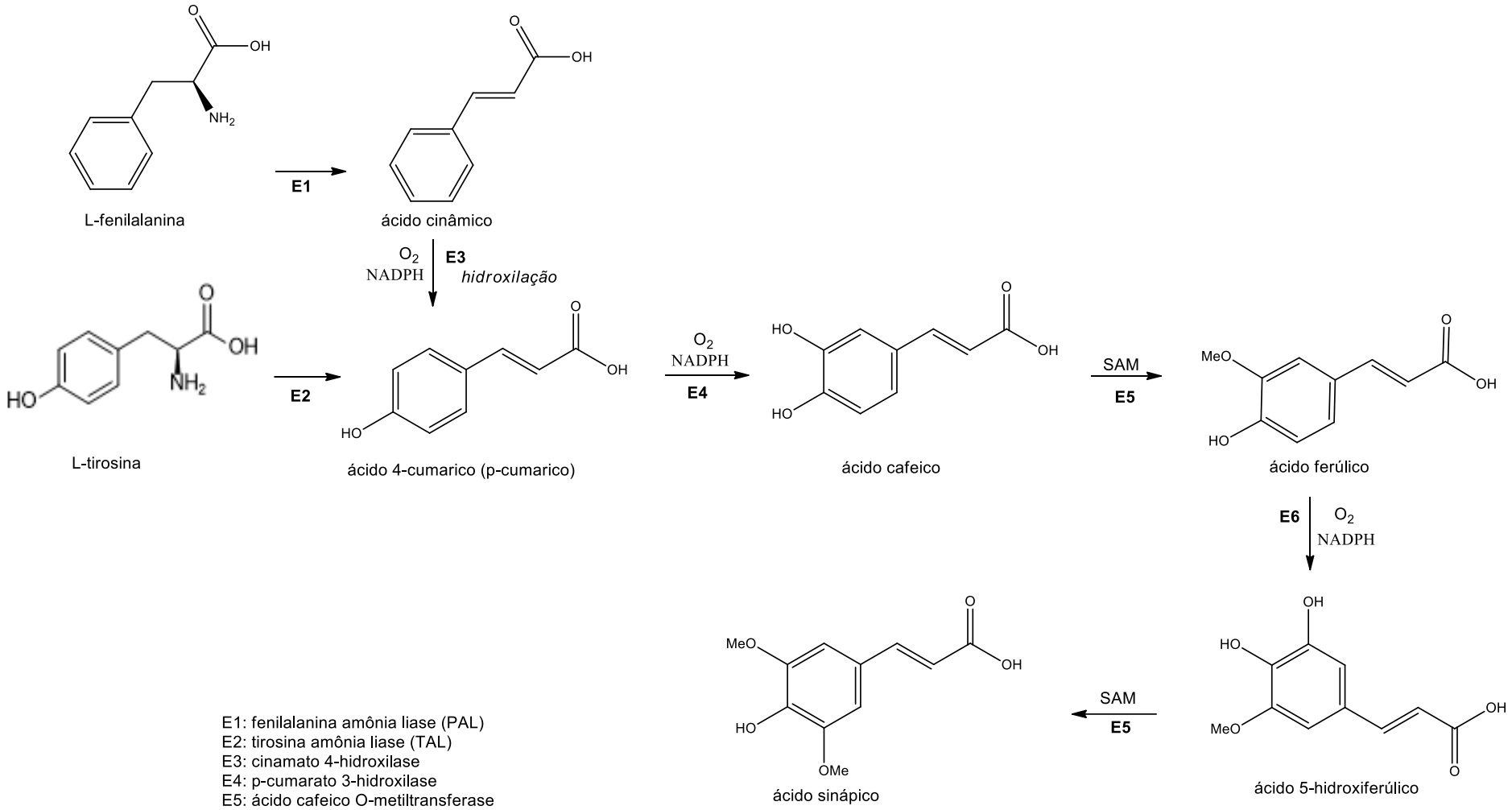


Figura 7: Biossíntese dos ácidos fenólicos. Fonte: adaptado de Kaushik (2015).

Os estudos que investigam os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, têm demonstrado sua capacidade antioxidante, a qual está associada à melhoria da saúde e ao combate aos radicais livres. Diversas substâncias fenólicas, como ácidos fenólicos, polifenóis, flavonoides, taninos e ligninas, estão presentes nos vegetais (Sousa et al., 2007).

Diversos ácidos fenólicos, como o ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido quínico (Figura 8) já foram detectados no café, especialmente o ácido clorogênico, que é formado por esterificação de ácidos trans-cinâmicos, como o ácido quínico. Esses ácidos são responsáveis por conferir à bebida do café o seu sabor distinto (Farah, 2012). O ácido clorogênico (ácido 5-O-cafeoilquínico) (Figura 8) é provavelmente o derivado hidroxicinâmico solúvel em maior abundância no café e sua biossíntese ocorre pela condensação dos ácidos cafeico e quínico por uma via de esterificação (Seedi et al., 2012).

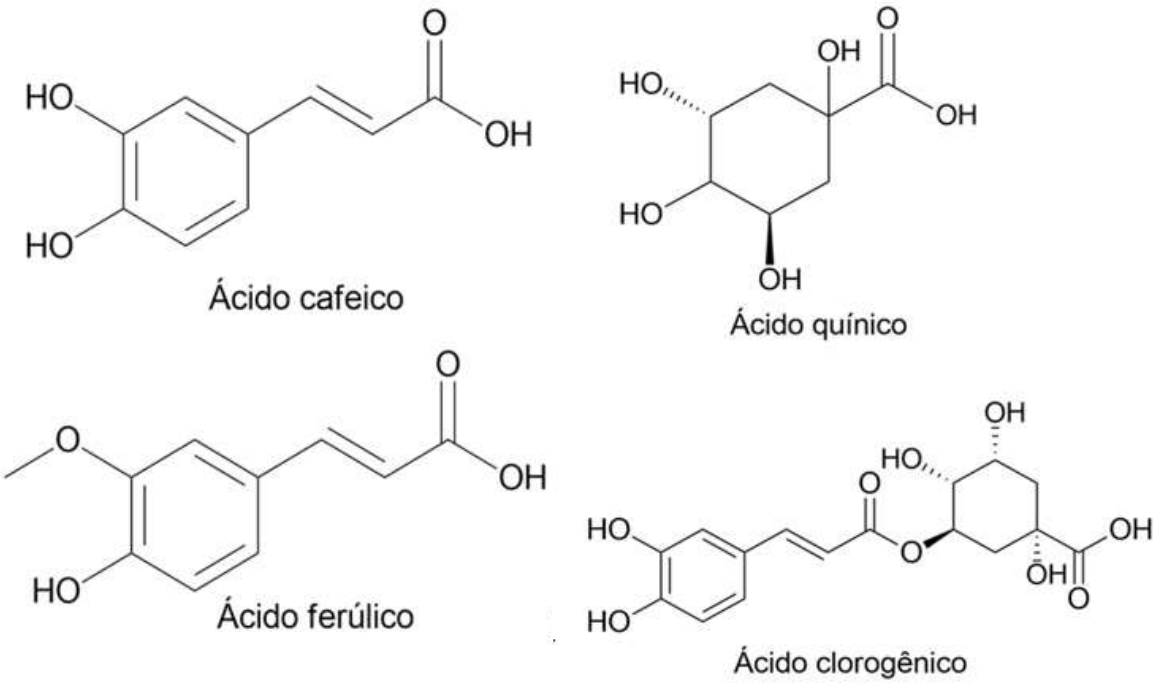


Figura 8: Estruturas químicas dos ácidos fenólicos identificados no café.

De acordo com Naveed e colaboradores (2018), o ácido clorogênico desempenha um papel terapêutico significativo na promoção da saúde devido à sua extensa gama de propriedades biológicas, destacando-se atividade antioxidante e antimicrobiana. Além disso, os ácidos clorogênicos possuem

propriedades anti-inflamatórias, antipiréticas e neuroprotetoras, bem como a capacidade de estimular o sistema nervoso central (Upadhyay e Mohan Rao, 2013).

Os diterpenos cafestol e kahweol já foram detectados no café. Estes compostos possuem propriedades bioativas associadas ao combate de certos tipos de câncer e inflamação (Novaes et al., 2019). A Figura 9 apresenta os diterpenos mais comumente identificados no gênero *Coffea*.

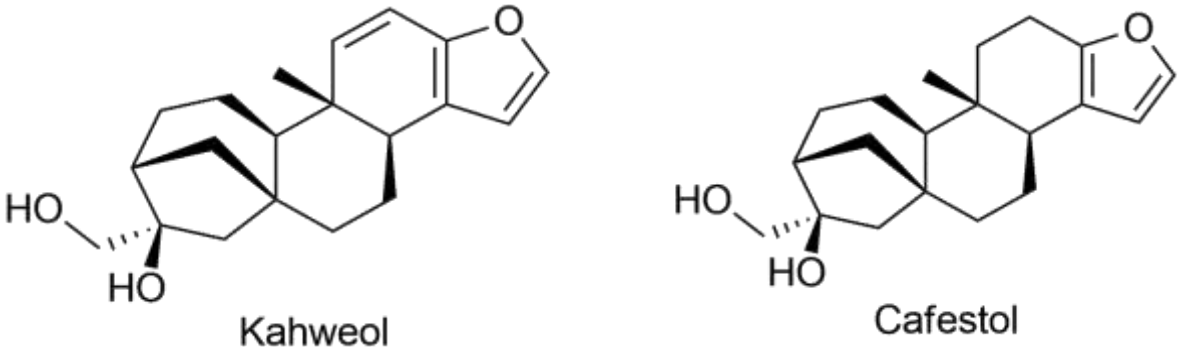


Figura 9: Diterpenos mais comuns identificados no gênero *Coffea*.

Na espécie *Coffea canephora* já foram identificados uma variedade de substâncias incluindo metilxantinas, ácidos clorogênicos, flavonoides, esteróis e lipídeos (Farah e Monteiro, 2013; Gesto e Simões, 2016). A Tabela 1 apresenta as substâncias mais comumente encontradas em *C. canephora*, juntamente as atividades biológicas correspondentes às classes de substâncias.

Tabela 1: Substâncias majoritariamente encontradas na espécie *C. canephora.*

Classe metabólica	Substância	Atividade biológica da classe	Parte da planta	Referência
Metilxantinas	Cafeína	Psicoativa estimulante	Grãos e folhas	Romero, 2017
	Teobromina	Psicoativa		Delaroza et al., 2014
	Teofilina	Broncodilatadora:		
Ácidos fenólicos	Ácido clorogênico (Ácido 5-O-cafeoilquínico)	Antioxidante, hipoglicemiante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumorais e hipotensiva.	Grãos e folhas	Mesquita, 2021. Almeida et al., 2017
	Ácido cafeico			Patay et al., 2016 Campa et al., 2012
	Ácido ferúlico			
Flavonoides	Quercetina	Antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora e cardioprotetora.	Grãos e folhas	Nascimento, 2022. Almeida et al., 2017 Vázquez et al., 2016. Farah et al., 2008
	Rutina			
	Campeferol			
Diterpenos	Cafestol	Efeitos sobre o colesterol Antitumoral Anti- inflamatória	Grãos e folhas	Dias et al., 2007 Mori et al., 2016.
	Kahweol			

A Figura 10 ilustra a distribuição percentual das principais classes metabólicas presentes em *Coffea canephora*. Essas classes desempenham papéis fundamentais tanto na defesa da planta quanto em potenciais benefícios à saúde humana.

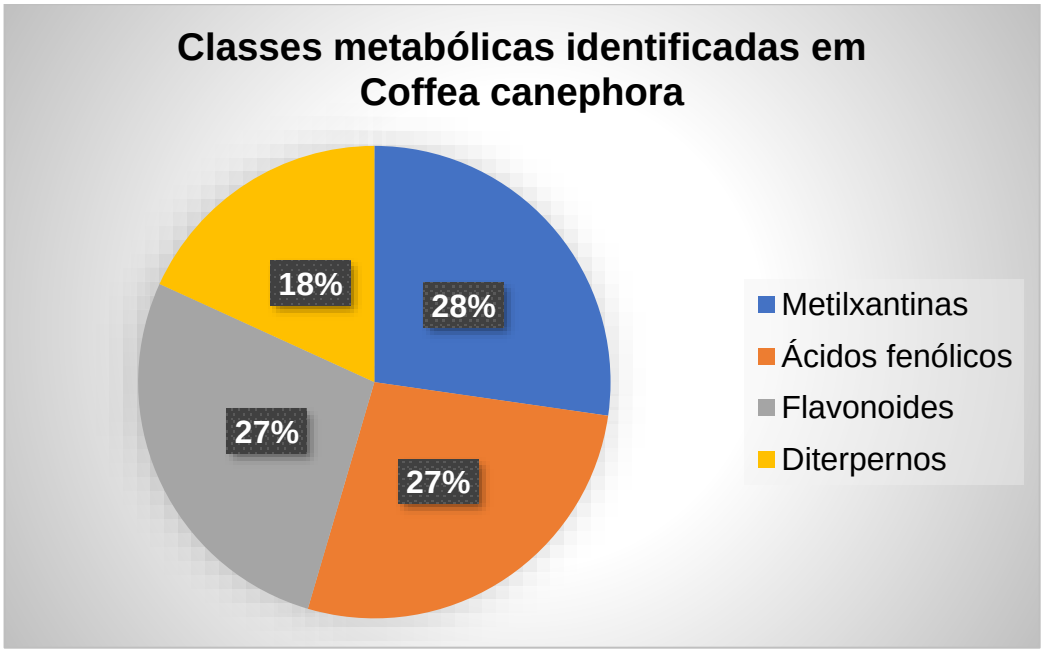


Figura 10: Distribuição percentual das principais classes metabólicas presentes na espécie *Coffea canephora*.

A distribuição percentual das classes metabólicas em *Coffea canephora* evidencia a importância funcional de cada grupo de compostos. As moléculas aromáticas representam mais de 50% das substâncias identificadas em *C. canephora*. Embora os diterpenos sejam menos abundantes, sua relevância destaca-se em mecanismos específicos de proteção da planta, além de apresentarem um considerável potencial bioativo para a saúde humana (Chiari, 2014). Dessa forma, *Coffea canephora* desponta como uma fonte promissora para o desenvolvimento de aplicações inovadoras envolvendo o café.

Diversos fatores podem influenciar a composição metabólica do café, incluindo a espécie, o genótipo e a sazonalidade (Ciaramelli et al., 2019).

A variação genética desempenha um papel fundamental na determinação da composição química do café, uma vez que diferentes espécies do gênero *Coffea* apresentam teores variados de compostos como cafeína, trigonelina e ácido clorogênico. Essa diversidade química é, portanto, um reflexo da influência específica de cada espécie. Adicionalmente, a sazonalidade exerce um papel

crucial na variação do perfil químico dos vegetais, afetando não apenas a composição de compostos fenólicos, açúcares e ácidos, mas também a intensidade dos sabores e aromas percebidos na bebida final (Martinez et al., 2014; Neto, 2016). Essa interação entre fatores genéticos e sazonais é essencial para a compreensão das características sensoriais do café.

3.3 Influência da sazonalidade na composição química das espécies vegetais

A composição metabólica das plantas sofre considerável influência da variação sazonal, o que significa que a quantidade e a natureza dos seus compostos podem variar ao longo do ano. Isso ocorre devido ao redirecionamento das rotas metabólicas, o que permite a biossíntese de diferentes substâncias. Diversos fatores, como a disponibilidade de luz solar, temperatura, umidade, e precipitação, podem afetar o metabolismo e o crescimento das plantas. Portanto, é importante avaliar as condições às quais as plantas são expostas para entender a variação dos seus constituintes químicos (Gobbo-neto e Lopes, 2007; Figueiredo et al., 2014).

A análise do efeito da sazonalidade na composição metabólica de espécies vegetais tem o potencial de influenciar os períodos ideais para o plantio e colheita, visando um melhor proveito, especialmente para as espécies comercializadas (Souza et al., 2017). De acordo com Gobbo-Neto e colaboradores (2007), a variação sazonal é responsável por mudanças em diversas classes de metabólitos secundários, tais como ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas e alcaloides.

Uma característica da cultura cafeeira é a bienalidade, que é um termo utilizado para descrever o ciclo de vida de uma planta que completa seu ciclo reprodutivo ao longo de dois anos, referente à alternância de alta e baixa frutificação ao longo do tempo (Bacha, 1998).

Um trabalho conduzido por Florez-Sarasa e colaboradores (2016) utilizando folhas de árvores de oliva buscou investigar a influência da sazonalidade na composição química nas folhas da planta, bem como sua relação com o estresse oxidativo. Através dos resultados, pode-se observar uma interferência significativa da sazonalidade nos compostos fenólicos e atividade antioxidante das folhas, com ênfase nos meses de verão, impactando também na concentração de ácidos graxos insaturados nas folhas da planta.

Bayala e colaboradores (2019) utilizaram uma árvore africana denominada *Balanites aegyptiaca* para examinar a influência da sazonalidade na composição química das cascas da planta. Os resultados apontaram consideráveis variações no conteúdo de polifenóis, alcaloides, taninos e saponinas ao longo das estações. Segundo os autores, tal influência na composição química pode ter relação com a adaptação fenotípica das plantas às variações ambientais sazonais.

Outros autores como Coutinho e colaboradores (2010), Guo e colaboradores (2010) e Afonso e colaboradores (2015), também realizaram trabalhos relacionando a influência sazonal com os metabólitos presentes em diferentes plantas, visando um melhor conhecimento acerca da sazonalidade nos metabólitos das respectivas espécies. Bertrand e colaboradores (2012), investigaram como variações sazonais podem afetar o perfil químico dos grãos de café e os compostos responsáveis pelo seu aroma característico. Eles observaram que o teor de certas substâncias, como ácidos orgânicos, açúcares e compostos fenólicos, apresentam variações sazonais. Essas variações também interferem na concentração de compostos voláteis responsáveis pelo aroma do café, o que sugere que o clima e a sazonalidade podem impactar na qualidade do café, bem como em suas características sensoriais (Souza et al., 2013).

O estudo realizado por Coutinho e colaboradores (2010) avaliou a influência da sazonalidade nas concentrações de flavonoides nas folhas de *Campomanesia adamantium*, utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD) e ensaios de atividade antioxidante. Os resultados revelaram mudanças significativas na composição química do extrato etanólico das folhas da planta em diferentes estações do ano.

De acordo com o trabalho de Santos (2016), vários estudos que investigaram a influência da sazonalidade nos constituintes químicos de diversas espécies vegetais, fizeram uso de técnicas cromatográficas, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) acoplada à Espectrometria de Massas (EM) e a Cromatografia a Gás (CG) acoplada à Espectrometria de Massas (EM).

3.4 Métodos cromatográficos

A cromatografia é uma técnica físico-química amplamente utilizada em análises químicas, que permite a separação, identificação e determinação de

múltiplos componentes em misturas complexas. Essa técnica baseia-se na interação entre duas fases: a fase estacionária, que é fixa, e a fase móvel, que competem entre si pelo analito (Skoog et al., 2014).

Tem-se relatos que o primeiro cientista a abordar sobre a técnica foi Caio Plínio, no ano de 77 d.C. (Pacheco et al., 2015). Porém, a descoberta da técnica da cromatografia foi documentada no relatório científico de Tswett, publicado no ano de 1903, no qual foram conduzidos experimentos de solubilidade usando extratos vegetais, a partir de então, foi observado a possibilidade de extração de componentes seletivos de amostras (Collins e Michael, 2009).

A base da cromatografia está na interação dos componentes analisados com a fase móvel e estacionária do sistema cromatográfico, incluindo interações intermoleculares, polaridade, solubilidade que são explicadas por fenômenos como a adsorção e a partição, que se baseiam em atrações eletrostáticas ou por forças de Van Der Waals (Ribeiro e Nunes, 2008).

A fase estacionária, pode ser composta por uma substância sólida ou líquida, é fixada em uma coluna ou superfície sólida e é percorrida pela fase móvel, que pode assumir a forma líquida, gasosa ou um fluido supercrítico, sendo esta última um vapor pressurizado. Geralmente, o estado físico da fase móvel é determinante para a classificação da técnica. Sendo assim, existem quatro principais definições para a cromatografia: Cromatografia em Coluna, Cromatografia em Camada Delgada (CCD), Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Ribeiro e Nunes, 2008; Skoog et al., 2014; Juszczak et al., 2019).

A seleção do método ideal de cromatografia a ser utilizado é determinada de acordo com o material que será analisado. A técnica apresenta alta flexibilidade devido à grande diversidade de combinações possíveis de componentes na fase estacionária e móvel. Além de ser viável o emprego das técnicas em sequência a fim de obter amostras mais puras (Amorim, 2019).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) possui a capacidade de separar múltiplas substâncias distintas presentes em uma amostra em um intervalo de tempo reduzido. Além disso, apresenta uma alta eficiência na resolução e sensibilidade. Com isso, é considerada uma ferramenta essencial para separar e avaliar vários tipos de substâncias (Höllein e Holzgrabe, 2018).

A análise por CLAE é realizada em equipamento chamado cromatógrafo, que possui colunas internas compostas por partículas de pequeno tamanho. A injeção da amostra é feita com micro seringas e a fase móvel é impulsionada por uma bomba de alta pressão (Dong, 2006). O principal modo de separação desta técnica é a cromatografia em fase reversa, em que a fase estacionária, presente na coluna, é de menor polaridade do que a fase móvel. Geralmente, a fase estacionária é feita de sílica com modificações químicas, já a fase móvel é uma mistura de solvente orgânico com água ou solução aquosa. Essa técnica é amplamente utilizada na separação de substâncias em diferentes áreas, como na indústria farmacêutica e química (Swartz, 2015; Roque et al., 2022).

É possível utilizar a CLAE em conjunto com a Espectrometria de Massas (EM) para a detecção de substâncias, a fim de identificá-las ou confirmar suas identidades em uma única análise, sendo amplamente empregada em estudos voltados à caracterização de metabólitos em matrizes complexas (Coskun, 2016).

Nesse contexto, destaca-se a Cromatografia Líquida de Ultraeficiência (CLUE), considerada uma evolução tecnológica da CLAE. Essa técnica utiliza colunas que possuem partículas de menor diâmetro na fase estacionária, o que permite maior eficiência de separação, tempos de análise reduzidos e menor consumo de solventes. Além disso, a CLUE oferece maior sensibilidade, com limites de detecção até três vezes inferiores aos obtidos por CLAE convencional, o que a torna vantajosa em análises que exigem alta resolução e rapidez (Wang et al., 2022).

3.5 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Os compostos fenólicos atuam inibindo a formação de radicais livres, que são moléculas instáveis contendo elétrons desemparelhados, tornando-se altamente reativas. Entre esses radicais, destacam-se as espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN). Em concentrações elevadas, essas espécies podem desencadear o estresse oxidativo, causando danos às células. Mas, em baixas concentrações, elas desempenham funções essenciais, como a defesa contra patógenos (Valko et al., 2006). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade do organismo de neutralizá-los por meio de antioxidantes (Cosme et al., 2020).

Os antioxidantes oferecem benefícios importantes para a saúde, pois protegem o organismo contra os danos causados pelos radicais livres, contribuindo para a prevenção de diversas doenças, como as cardiovasculares, doenças crônicas (como aterosclerose e artrite reumatoide) e doenças neurodegenerativas, como o Mal de Alzheimer (Alam et al., 2023). Há um grande interesse pelos antioxidantes naturais provenientes de plantas, uma vez que eles apresentam vantagens, como baixos efeitos colaterais e baixa toxicidade, quando comparados aos antioxidantes artificiais. A atuação desses compostos consiste em sequestrar elétrons das espécies reativas, estabilizando-as (Cayetano, 2020).

Um método muito utilizado para a determinação da capacidade antioxidante de compostos se baseia na atividade sequestradora do radical orgânico 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•), de coloração roxa, que, mediante a ação de um antioxidante, é reduzido a 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), um radical estável de coloração amarela. A substância antioxidante doa um átomo de hidrogênio ao 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•), dando origem à forma reduzida do radical, o 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, com a perda da cor roxa para amarela. A capacidade antioxidante é acompanhada com o auxílio de técnicas espectrofotométricas (Munteanu e Apetrei, 2021). A Figura 11 retrata a reação do radical (DPPH•) com uma molécula antioxidante.

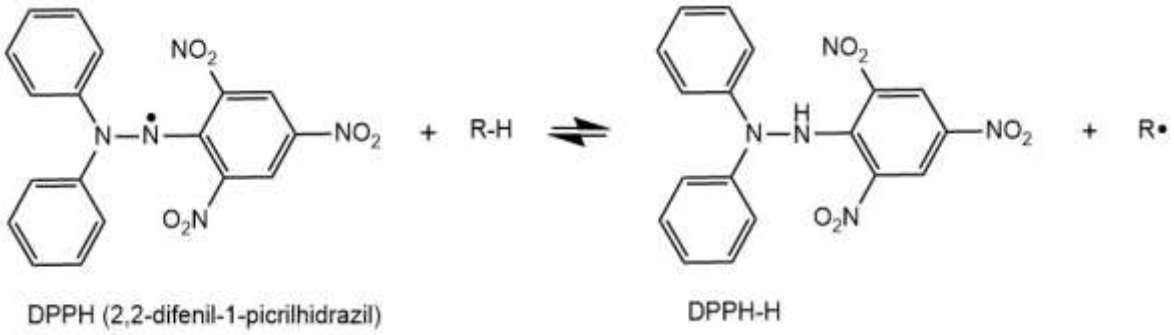


Figura 11: Reação entre o radical DPPH e a molécula antioxidante.

O método DPPH apresenta diversas vantagens, como facilidade de uso, precisão, baixo custo e boa estabilidade na ausência de luz (Deng et al., 2011). Embora o método DPPH• seja utilizado em mais de 90% dos estudos que abordam a atividade antioxidante, existem outros métodos que também são utilizados nessas pesquisas, como o método FRAP *(Ferric-Reducing Ability of Plasma),* que também

apresenta vantagens como simplicidade, rapidez, praticidade e não requer equipamento especializado (Ciesla et al., 2012).

O teste FRAP tem sido adaptado para a determinação da atividade antioxidante, embora tenha sido inicialmente criado para medir o poder redutor do plasma (Benzie e Strain, 1996). A reação avalia a redução do complexo de íons férricos (Fe^{3+}) em um ligante para o complexo ferroso azul (Fe^{2+}), na presença de um antioxidante, sendo possível monitorá-la a 593 nm por meio de um espectrofotômetro (Antolovich et al., 2002). O teste FRAP é conduzido em condições de pH ácido (3,6) para garantir a solubilidade do ferro. A realização da reação em um pH mais baixo reduz o potencial de ionização, o que favorece a transferência de elétrons e eleva o potencial redox (Hagerman et al., 1998; Benkhaira et al., 2022).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), no Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) e no Laboratório de Ciências Químicas (LCQUI), no Centro de Ciência e Tecnologia (CCT), na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes.

Para realização dos experimentos foram utilizadas folhas de diferentes genótipos de *Coffea canephora*, provenientes de plantio realizado em uma propriedade particular no município de Nova Venécia, região norte do Espírito Santo, Brasil. Essa região apresenta um clima classificado como Aw de acordo com a classificação de Köppen (Alvares et al., 2013), onde a letra "A" indica um clima tropical, enquanto a letra "w" representa a ocorrência de uma estação seca no período do inverno. Assim, caracteriza-se por um verão quente e úmido e um inverno seco.

4.1 Coleta e identificação do material vegetal

Foram coletadas folhas de coloração verde claro do ápice de sete genótipos de *Coffea canephora*, sendo realizada a coleta de uma planta por genótipo, no período do inverno e no período do verão, totalizando 14 amostras. As amostras foram identificadas e acondicionadas em nitrogênio líquido, armazenadas em ultra-freezer -80ºC e posteriormente direcionadas para freezers em laboratórios da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). As amostras foram identificadas como consta na Tabela 2.

Tabela 2: Identificação dos genótipos de *Coffea canephora* provenientes do município de Nova Venécia, ES - Brasil.

Identificação	Nome do genótipo
8	AT
14	L80
15	Bamburral
17	Peneirão
25	Z21
30	A1
36	LB1
43	Arabica

43 = O genótipo 43 pertence à espécie *Coffea arabica*

Os genótipos analisados neste estudo foram selecionados com base nos resultados obtidos por Sousa (2023), que confirma a variabilidade genética desses indivíduos. Além disso, o autor recomenda o cruzamento entre alguns desses indivíduos visando a manutenção da variabilidade genética da população e alta produtividade, o que contribui para o melhoramento genético do café Conilon. A amostra de código 43 é referente a um genótipo da espécie *Coffea arabica* que será utilizada para fins de comparação.

4.2 Preparo das amostras

As folhas dos genótipos de *C. canephora* foram secas, e posteriormente moídas para a preparação dos extratos. Os extratos foram preparados pelo método de decocção utilizando 140 g do material vegetal seco e água como solvente. Após o preparo do decocto, 70 mL dos extratos foram evaporados em banho-maria,

dando origem aos extratos aquosos secos, que foram armazenamos em recipientes a vácuo e posteriormente, em freezer.

4.3 Avaliação do perfil químico do extrato de folhas de diferentes genótipos de *Coffea canephora* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Os extratos das amostras foram analisados em Cromatógrafo Líquido marca Shimadzu, modelo LC-20A, bombas LC20AD, coluna cromatográfica C-18 a 35°C. A fase móvel utilizada foi água ultrapura acidificada com ácido fosfórico (pH = 3,2) na bomba A, e acetonitrila na bomba B, com fluxo de 1 mL/min.

Para injeção no cromatógrafo, as amostras foram preparadas utilizando-se 8 mg de extrato, que foram solubilizados em 1 mL da fase móvel, constituindo-se de 500 µL de água acidificada e 500 µL de acetonitrila. Os extratos foram filtrados com o auxílio de microfiltros e seringas descartáveis. O gradiente de eluição é detalhado na Tabela 3. A Figura 12 mostra o equipamento de CLAE utilizado nas análises do Laboratórios de Tecnologia de Alimentos.

Tabela 3: Método utilizado: Gradiente de eluição – Bomba A: água ultrapura acidificada; Bomba B: Acetonitrila.

Tempo (min)	Concentração da bomba B (%)
0,1	0
5, 00	30
10, 00	50
15, 00	70
20, 00	80
25, 00	90
30, 00	100
32, 00	0



Figura 12: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu LC-20A, do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (CCTA/UENF).

4.4 Identificação das substâncias por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução (CLUE-ESI-QTOF-MS).

A análise e identificação das substâncias foi realizada por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada ao Espectrômetro de Massas de alta resolução. Uma grande vantagem da utilização desta técnica acoplada ao Espectromêtro de Massas é a possibilidade de obter consideráveis informações estruturais do analito, o que garante uma identificação mais exata (Drahos et al., 2001).

O sistema CLUE-ESI-QTOF-MS é formado por um cromatógrafo Shimadzu UFLC equipado com duas bombas LC-20AD, desgaseificador DGU-20A3, injetor automático SIL-20A, forno CTO-20A, detector de arranjo de diodos (DAD) SPD-M20A e controladora CBM-20A. O cromatógrafo conta com coluna Phenomenex LUNA Omega C18 100A (50 mm x 2,1 mm e partícula de 1,6 µm) e uma pré-coluna Phenomenex C18 (2,1 mm) compatível com a coluna. Este sistema está acoplado ao espectrômetro de massas de alta resolução Bruker MicrOTOF-Q II equipado com fonte de ionização por spray de elétrons (*electrospray ionization* - ESI) e analisador de massas por quadrupolo-tempo de voo *(quadrupole-time of flight* - QTOF).

As amostras submetidas à análise por CLUE-ESI-MS foram preparadas utilizando 5 mg da amostra, solubilizadas em 1 mL de solução de água deionizada e acetonitrila (10%). O método do gradiente de eluição foi utilizado nessa técnica e encontra-se detalhado na Tabela 4. A Figura 13 ilustra o Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (Shimadzu UFLC) em sua configuração acoplada ao Espectrômetro de Massas.

Tabela 4: Método utilizado: Gradiente de eluição – Bomba B: Acetonitrila.

Tempo (min)	Concentração da bomba B (%)
0,01	0
2,00	3
3,00	5
23,00	7
25,00	16
45,00	22
60,00	45
65,00	100
70,00	100
75,00	3
80,00	3
80,10	0



Figura 13: Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (Shimadzu UFLC) acoplado ao Espectrômetro de Massas (Bruker MicrOTOF-Q II), do Laboratório de Ciências Químicas (CCT/UENF).

4.5 Determinação do teor de fenólicos totais

4.5.1 Método de Folin-Ciocalteu

Um dos métodos utilizados para a determinação dos compostos fenólicos totais nos extratos de *C. canephora* foi o de Folin-Ciocalteau. Esse método se baseia na reação entre o reagente Folin- Ciocalteau e os compostos fenólicos presentes na amostra, resultando em uma coloração azul que pode ser quantificada por meio de técnicas espectrofotométricas (Slinkard e Singleton, 1997; Zuhair et al., 2013). A Figura 14 ilustra o procedimento adotado para a realização desse método.

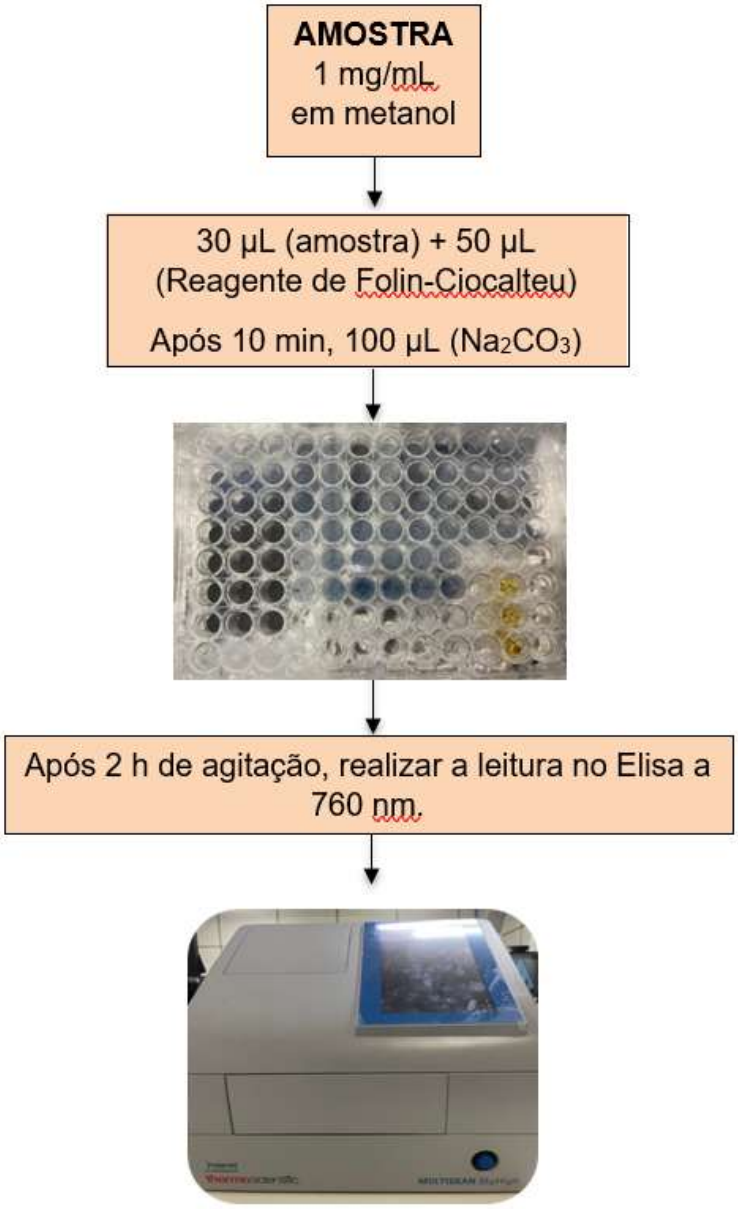


Figura 14: Esquema para realização da análise de quantificação de teor de fenólicos totais, pelo método de Folin-Ciocalteu.

Para a realização da análise, foi preparada uma solução estoque de amostra de concentração 1,0 mg/mL, solubilizada em metanol. Após a preparação da solução estoque, uma alíquota de 30 µL de cada amostra foi transferida para o poço de uma microplaca com 96 poços. Em seguida, foi adicionado 50 µL do reagente de Folin-Ciocalteau (1N) em cada poço. Após 10min foram acrescentados 100 µL de carbonato de cálcio (7,5% m/v). As amostras foram homogeneizadas e levadas para o agitador por 2h. Posteriormente, a leitura das absorbâncias foi realizada a 760 nm, utilizando um leitor de microplacas ELISA (Multiskan Skyhigh – Thermo – 110V).

Para a quantificação dos fenólicos totais, foi elaborada uma curva analítica utilizando o ácido gálico como padrão, cujas concentrações variaram de 5, 50, 100, 200, 300, 400 a 500 µg/mL. Foi obtida uma equação da reta, permitindo correlacionar a intensidade da coloração/absorbância à concentração de fenólicos presentes nas amostras. O experimento foi conduzido em triplicata, e os resultados foram expressos em mg de Equivalente de Ácido Gálico (EAG) por grama de extrato (mg EAG/g extrato).

4.5.2 Método Fast Blue BB

O método para a determinação de compostos fenólicos utilizando o reagente (Fast Blue BB Salt) foi adaptado e reproduzido conforme (Ravindranath et al., 2021). Esse procedimento se baseia na interação direta entre os compostos fenólicos e o sal de diazônio presente no reagente, que ocorre em meio levemente alcalino. Nessas condições, ocorre a conversão dos compostos fenólicos a íons fenóxido (ArO-), que possuem maior reatividade. A quantificação desses compostos é realizada utilizando técnicas espectrofotométricas (Medina, 2011a). A Figura 15 apresenta o esquema do procedimento utilizado neste método.

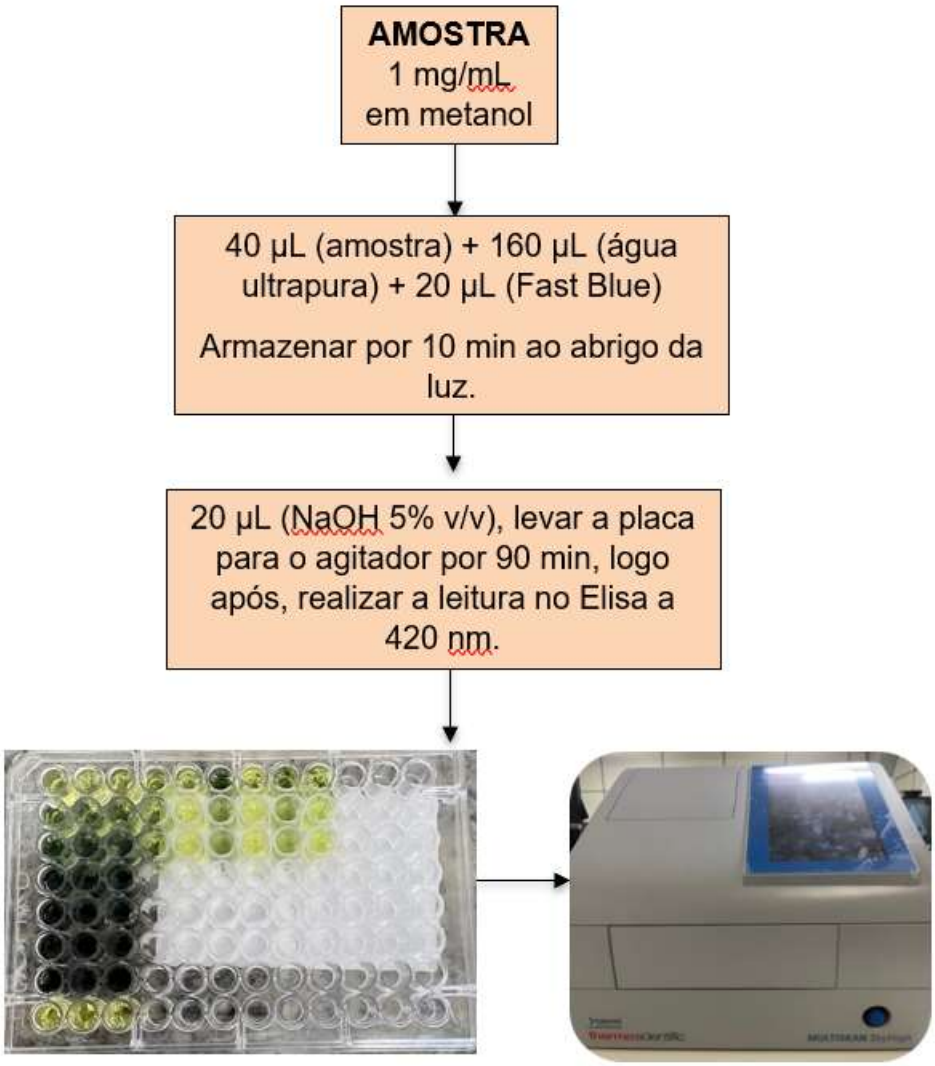


Figura 15: Esquema para realização da análise de quantificação de teor de fenólicos totais, pelo método Fast Blue BB.

Inicialmente foi preparada uma solução estoque de amostra na concentração de 1 mg/mL, solubilizada em metanol. Posteriormente, uma alíquota de 40 µL dessa solução foi transferida para o poço de uma microplaca de 96 poços. Em cada poço, também foram adicionados 160 µL de água ultrapura e 20 µL do reagente Fast Blue (0,01%, m/v) recém-preparado. A microplaca foi armazenada, ao abrigo da luz por 10min. Após esse período, foi acrescentado 20 µL de hidróxido de potássio (1N). As amostras foram homogeneizadas e então levadas para o agitador por 90min.

A leitura das absorbâncias foi realizada a 420 nm, utilizando o leitor de microplacas ELISA (Multiskan Skyhigh – Thermo – 110V). Foi elaborada uma curva analítica utilizando o ácido gálico como padrão, nas concentrações de 5, 100, 200, 300, 400 e 500 µg/mL. O experimento foi realizado em triplicata. Os resultados do

conteúdo de fenólicos totais foi expresso como miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g extrato).

4.6 Avaliação da atividade antioxidante

4.6.1 Método por sequestro do radical DPPH

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada por meio do método de sequestro de radicais livres utilizando o 2,2-difenilpicrilhidrazila (DPPH), conforme estabelecido por Brand-Williams et al. (1995), com adaptações. Este método consiste na quantificação da redução do DPPH, sendo realizada por meio de espectrofotometria Moharram e Youssef (2014). A Figura 16 ilustra o procedimento adotado para realização do método.

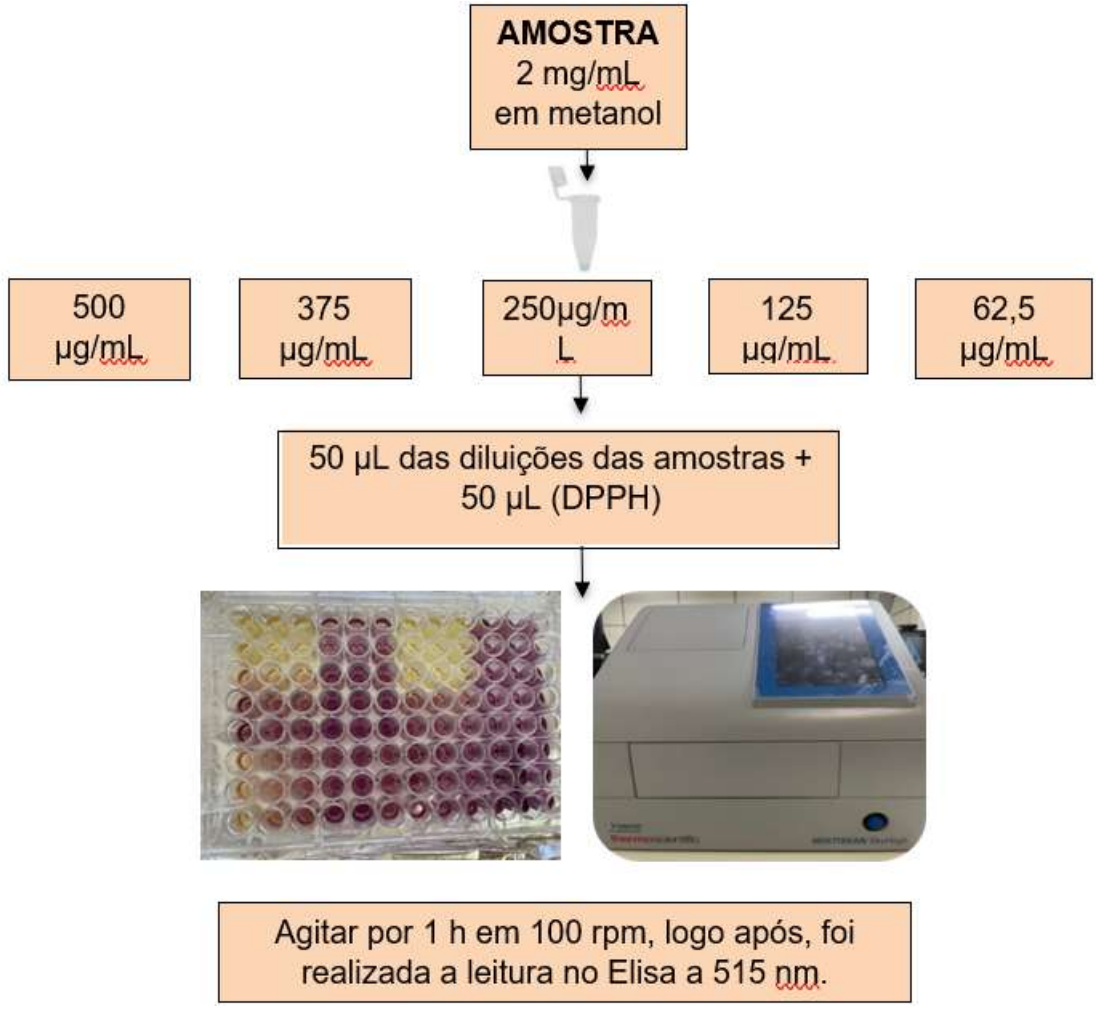


Figura 16: Esquema para realização da análise de quantificação de teor de fenólicos totais, pelo método Fast Blue BB.

Para a realização do experimento, preparou-se uma solução estoque dos extratos na concentração de 2 mg/mL em metanol, posteriormente diluída para obter as concentrações de 62,5, 125, 250, 375 e 500 µg/mL. Em seguida, foram transferidos 50 µL de cada diluição para poços de uma microplaca de 96 poços, juntamente com 50 µL da solução de DPPH. A microplaca foi agitada a 100 rpm por 1 h, protegida da luz, e posteriormente submetida à leitura em leitor de microplacas do tipo ELISA (Multiskan SkyHigh – Thermo – 110V), a 515 nm.

Para a preparação do DPPH, foi dissolvido 0,0125 g do composto em 50 mL de metanol. O controle positivo utilizado foi uma solução padrão da substância antioxidante 2,6-di-(tert-butil)-4-metilfenol (BHT), preparado nas mesmas concentrações das amostras analisadas. Além disso, um controle negativo foi estabelecido utilizando somente a solução de DPPH, sem a presença do extrato. O experimento foi realizado em triplicata, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. Para o cálculo da porcentagem de inibição do radical DPPH, empregou-se a Equação 1, em que Abs_1 corresponde à absorbância da solução de DPPH em metanol, utilizada como branco, enquanto Abs_2 corresponde à absorbância da amostra em solução.

$$\%\ Inibição\ DPPH = \frac{(Abs1 - Abs2)}{Abs1}\ X\ 100 \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de IC_{50}, calculado através do programa estatístico GraphPad Prism. O IC_{50} é uma medida que indica a concentração de um antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Um estudo como o de Nogueira (2023) demonstrou a utilização do IC_{50} para expressar os resultados de diferentes concentrações de amostras em relação ao seu potencial antioxidante.

4.6.2 Método FRAP

O ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) avalia a eficácia dos antioxidantes na neutralização de radicais livres por meio da transferência de elétrons. Essa capacidade é determinada pela redução do complexo Fe^{3+} associado ao 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) para a forma Fe^{2+}, a qual apresenta coloração azul (Prior et al., 2005). A metodologia utilizada para a realização deste

ensaio foi baseada no trabalho de Urrea-Victoria et al. (2016), com adaptações conforme demonstrado na Figura 17.

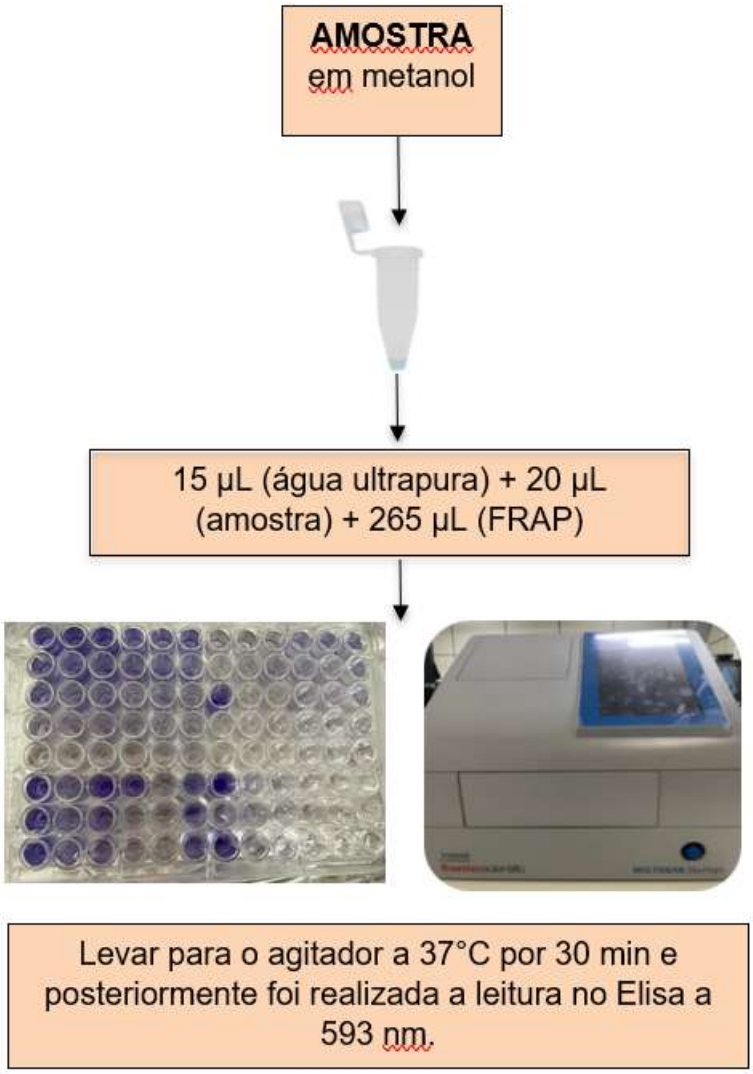


Figura 17: Ensaio de atividade antioxidante pelo método FRAP (adaptado de Urrea-Victoria et al., 2016).

Para a realização do experimento, foram preparadas soluções de extratos de *Coffea canephora*, provenientes das colheitas de verão e inverno, a uma concentração de 1 mg/mL em metanol.

Posteriormente, foi transferido uma alíquota de 20 µL de cada amostra para uma microplaca de 96 poços. A cada uma dessas amostras, foi adicionado15 µL de água ultrapura e 265 µL do reagente FRAP, totalizando 300 µL em cada poço da microplaca. Após o preparo da placa, esta foi agitada a 37°C por 30min. A leitura da absorbância foi realizada em um leitor de microplacas (ELISA) a 593 nm. O

branco foi preparado com todos os componentes reacionais, exceto a amostra, e o ensaio foi realizado em triplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados.

O reagente FRAP foi preparado a partir de 50 µL de tampão de acetato de sódio com 5 mL de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina), seguido de homogeneização. Em seguida, foi adicionado 5 mL de cloreto férrico e a mistura foi mantida em um banho-maria a 37°C por 10min, resultando em uma solução transparente.

Para a preparação do TPTZ a 10 mM, foi dissolvido 0,0156 g do composto em 2 mL de solução de HCl 40 mM, completando o volume para 5 mL. Já o cloreto férrico a 20 mM foi preparado pesando 0,0539 g de FeC_3 e dissolvendo-o em 10 mL de água ultrapura. A solução tampão de acetato, com concentração de 0,3 M e pH ajustado para 3,6, foi preparada a partir da dissolução de 0,775 g de acetato de sódio em 230 mL de água ultrapura. O pH foi ajustado para 3,6 utilizando ácido acético glacial, adicionando-o gradualmente (aproximadamente 3 mL) e, em seguida, o volume foi ajustado para 250 mL, verificando sempre o pH da solução.

Além disso, foi elaborada uma curva de calibração de ácido gálico, com valores de R^2 = (0,9965) nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5; 3,0; 3,5 e 6,0 µg/mL. Os resultados obtidos foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (EAG) por grama de extrato.

4.7 Análise Estatística

Os resultados obtidos na determinação do teor de fenólicos totais e na avaliação de potencial antioxidante foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism, por meio da Análise de Variância (ANOVA) e de testes de significância. Para determinar a atividade antioxidante pelo método do DPPH (item 4.6.1), o cálculo do IC_{50} foi realizado por regressão não linear. Os gráficos tridimensionais de correlação foram gerados utilizando o programa Statistica 12.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Perfil químico dos extratos aquosos de diferentes genótipos de *Coffea canephora*

Os extratos obtidos das folhas de *Coffea canephora* foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) com o objetivo de caracterizar seu perfil químico.

Os cromatogramas obtidos pela análise das amostras do verão apresentaram um pico predominante com um tempo de retenção (TR) de 15min, além de outros picos menores detectados em diferentes tempos de retenção (TR = 10, 12, 16, 17, 18, 20 e 22min), sugerindo a presença de diferentes substâncias químicas. Por outro lado, as análises das amostras obtidas no inverno revelaram um perfil mais simplificado, com a predominância de um pico principal (TR = 15 min) em todas as amostras. A Tabela 5 apresenta os tempos de retenção (TR) obtidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para as substâncias químicas presentes nos genótipos de *Coffea canephora*, nas amostras coletadas no verão e no inverno. Além disso, são apresentados os diferentes percentuais de área para as moléculas correspondentes aos picos gerados pela análise.

Tabela 5: Tempo de retenção (TR) dos principais picos cromatográficos e área.

Genótipos	Verão		Inverno	
	TR (min)	Área (%)	TR (min)	Área (%)
AT (8)	10.747	12.742	15.783	100.000
	12.492	9.128		
	15.788	48.697		
	17.183	6.690		
	18.615	4.809		
	22.785	14.183		
L80 (14)	15.765	57.630	15.763	100.000
	17.129	17.895		
	18.561	9.251		
	22.765	9.736		
Bamburral (15)	10.879	30.355	15.660	100.000
	15.100	69.645		
Peneirão (17)	10. 737	29.093	15.408	100.000
	15. 254	5.552		
	15.786	34.410		
	17.181	11.119		
	18.614	7.549		
	22.796	12.276		
Z21 (25)	15.092	69.611	15.565	100.000
	16.712	18.454		
	18.183	11.934		
A1 (30)	15.350	56.073	15.293	66.728
	15.562	43.927	15.561	33.272
LB1 (36)	15.442	25.171	15.468	100.000
	17.202	26.263		
	20.720	48.566		

O maior número de picos cromatográficos observados nos genótipos do verão indica uma maior diversidade na composição química dessas amostras em comparação às amostras de inverno. Essas variações sazonais no perfil químico das folhas podem estar relacionadas a reações metabólicas ocorrentes na planta,

que podem ser potencializadas por fatores ambientais característicos do verão, como intensa luz solar, altas temperaturas e umidade (Morais Las, 2009).

Os resultados obtidos estão ilustrados nos cromatogramas das Figuras 18 a 25, que apresentam os respectivos espectros de absorção dos picos majoritários. Os valores de absorção dos espectros adicionais podem ser consultados nos Apêndices A e B.

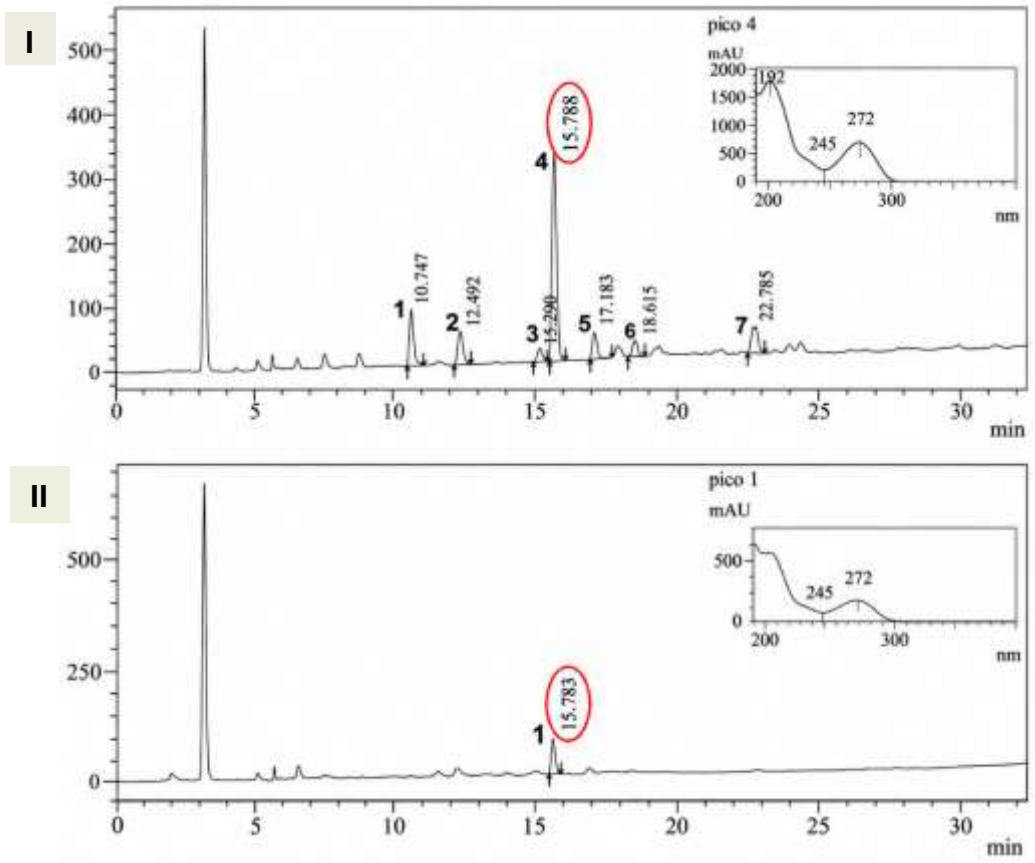


Figura 18: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo AT (8) de Coffea canephora (I: verão, II: inverno).

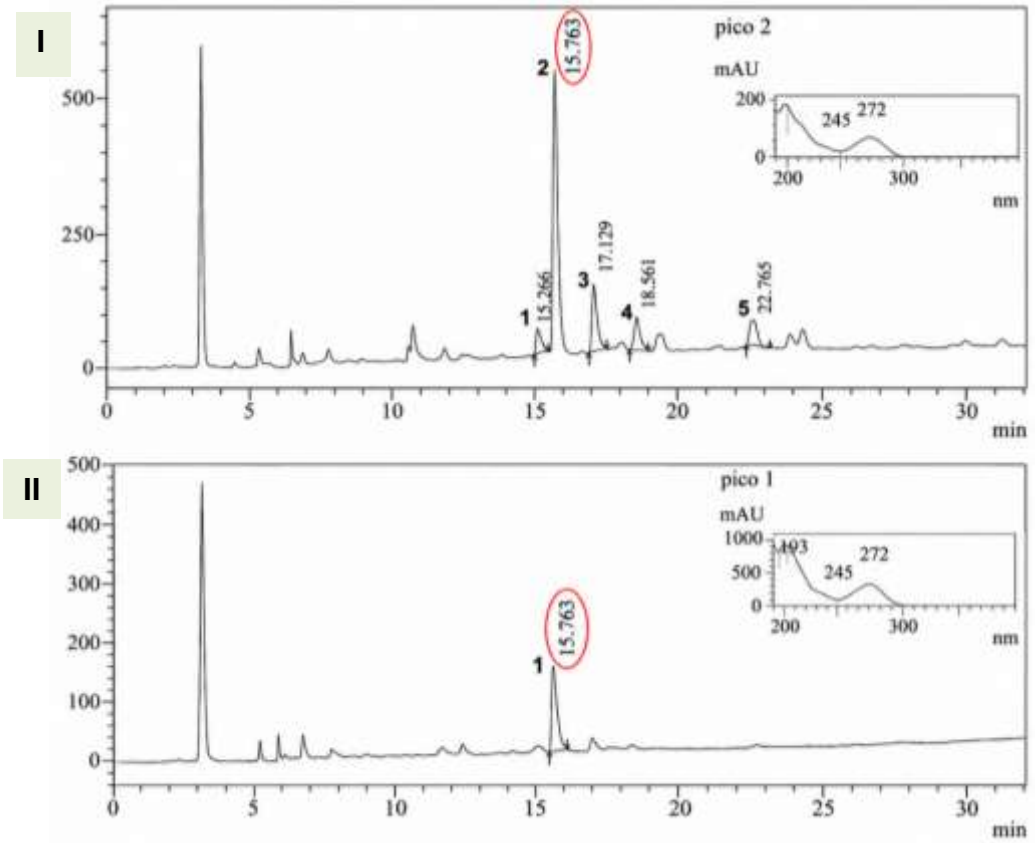


Figura 19: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo L80 (14) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).

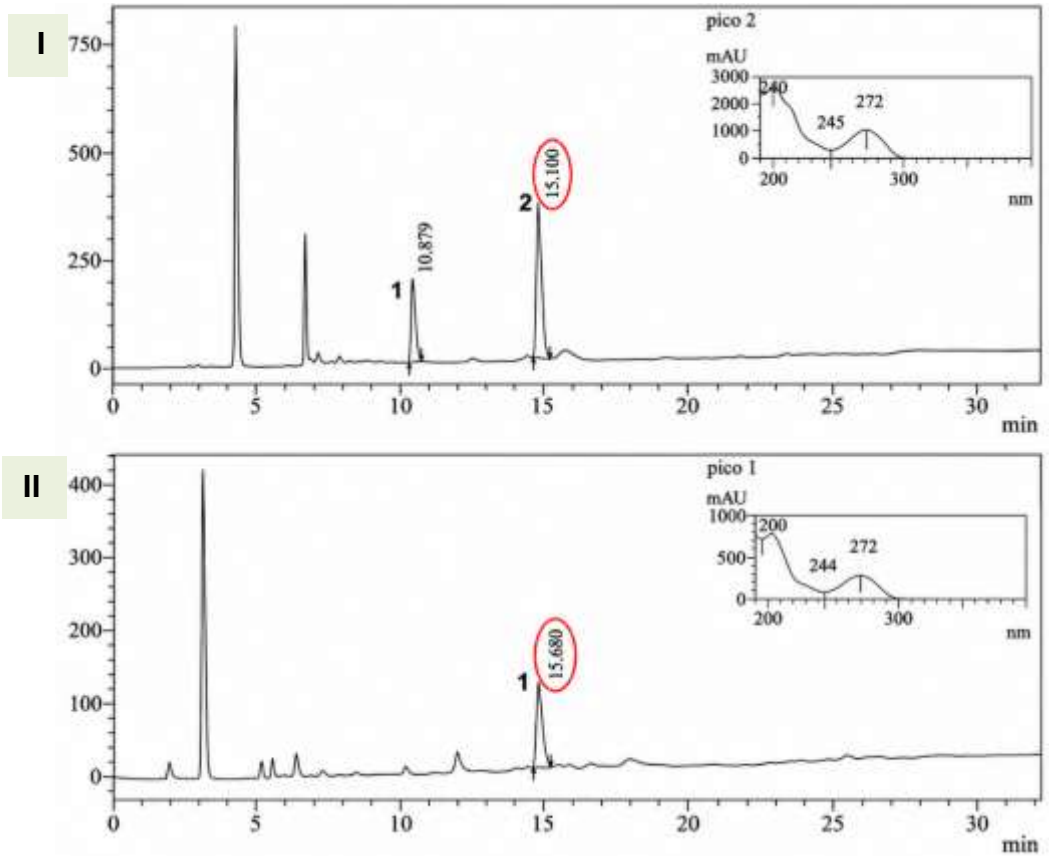


Figura 20: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo Bamburral (15) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).

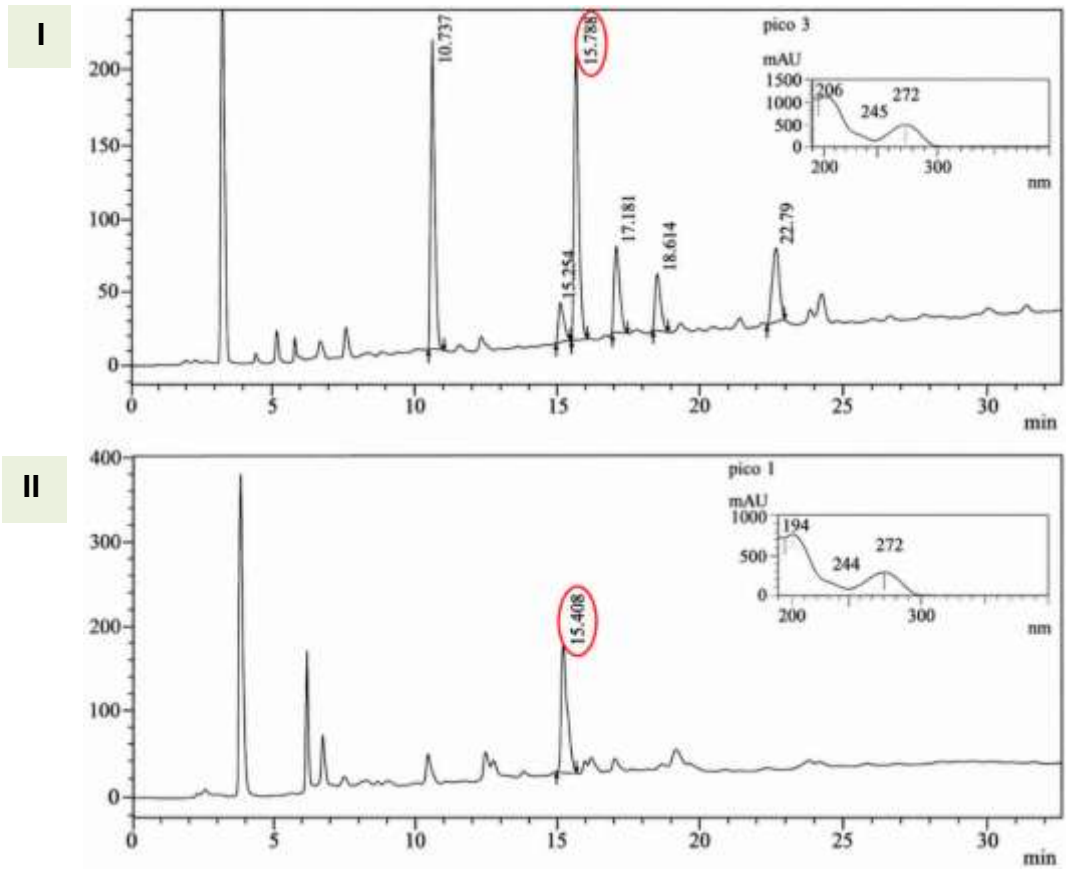


Figura 21: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo Peneirão (17) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).

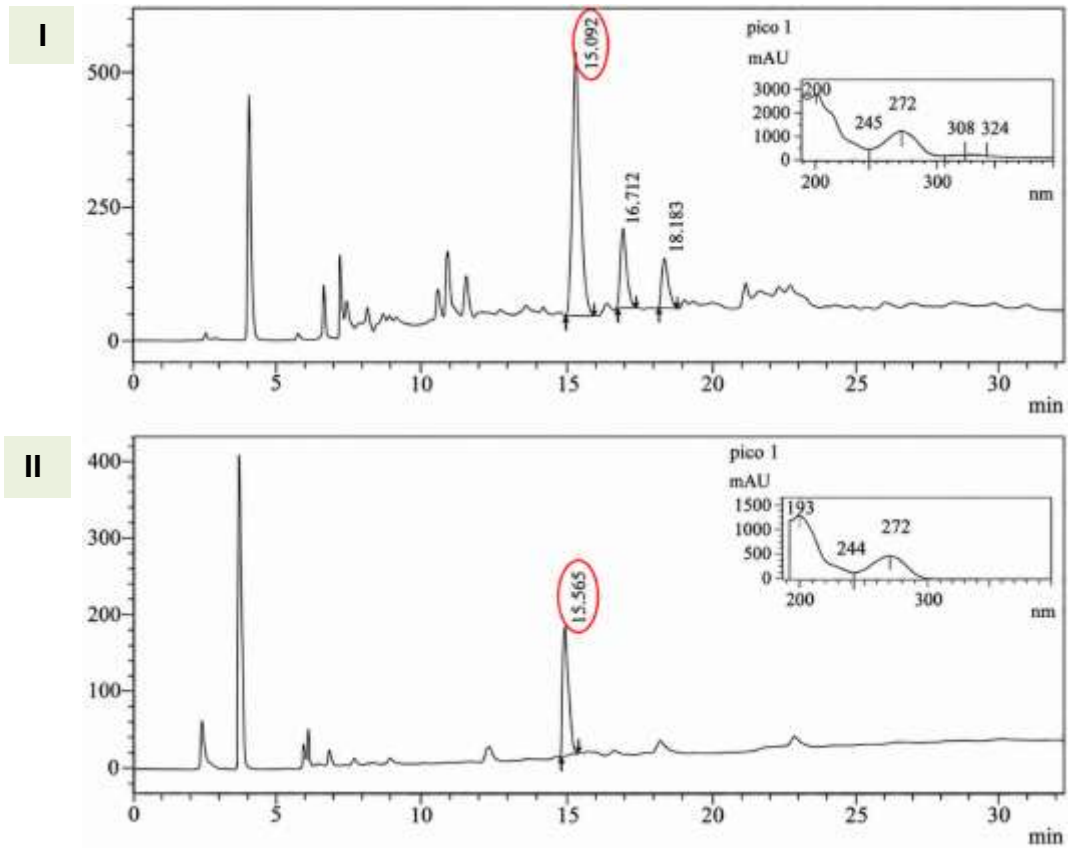


Figura 22: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo Z21 (25) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).

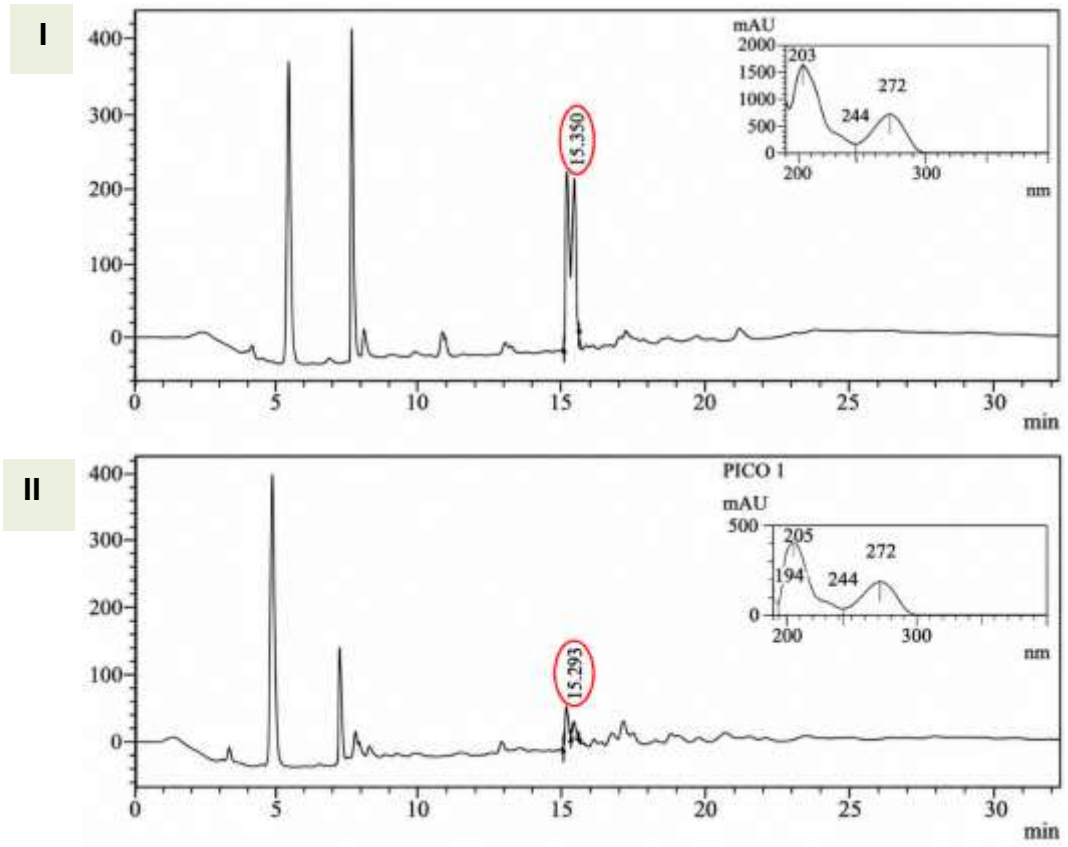


Figura 23: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo A1 (30) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).

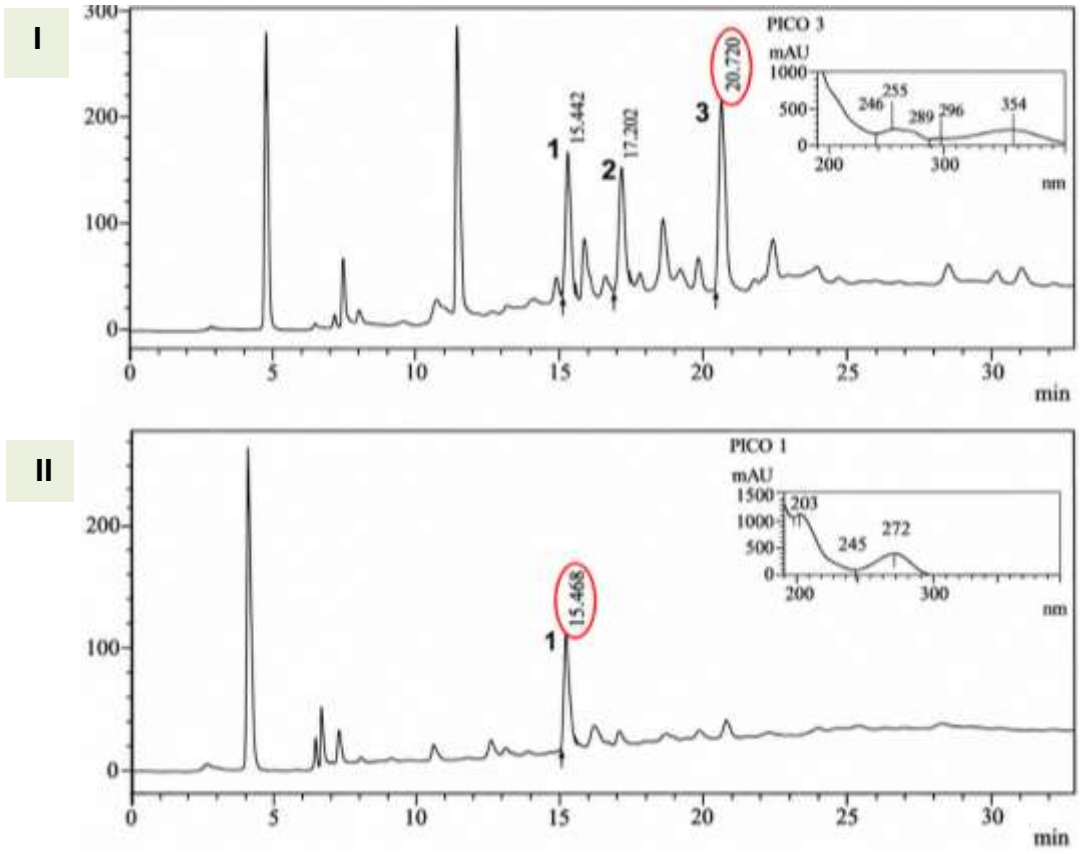


Figura 24: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo LB1 (36) de *Coffea canephora* (I: verão, II: inverno).

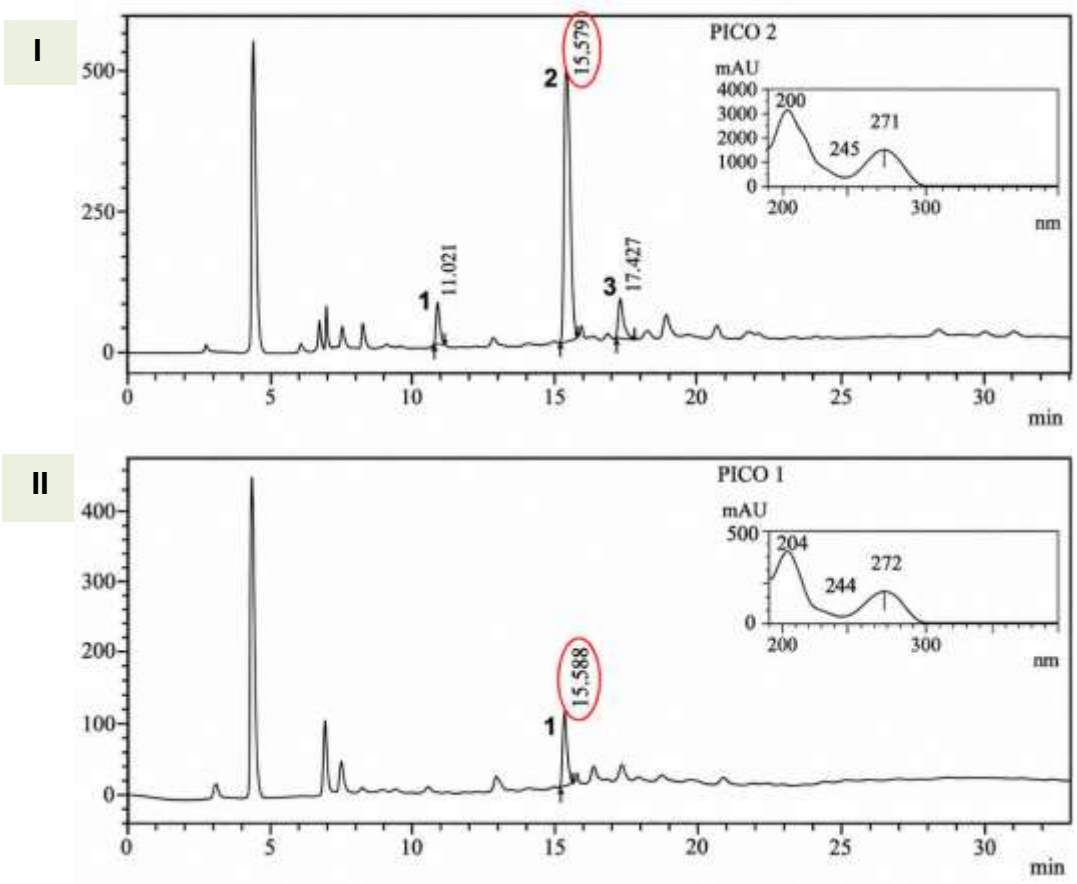


Figura 25: Cromatograma obtido por CLAE-DAD do extrato aquoso do genótipo de *Coffea arabica* (I: verão, II: inverno).

Os espectros de UV correspondentes aos picos cromatográficos de todos os genótipos analisados revelaram bandas de absorção entre 200 e 350 nm, sugerindo a presença de compostos fenólicos. Esses compostos, que possuem núcleos aromáticos frequentemente conjugados, apresentam espectros de absorção característicos na região do ultravioleta (UV), com uma ou mais bandas de absorção situadas entre 200 e 360 nm (Aleixandre e Toit, 2018).

No tempo de retenção (TR) de 15min, o espectro UV apresentou absorbância entre 240 e 300 nm, com uma absorção máxima em 272 nm, perfil característico da cafeína que apresenta um padrão de absorção nessa faixa de comprimento de onda (Belay et al., 2008). Resultados similares foram descritos por Maria e Moreira (2007) em seu estudo de revisão sobre os principais métodos de análise de cafeína relatados na literatura.

Recentemente, Adane e colaboradores (2023) determinaram o teor de cafeína em grãos de café coletados no distrito de Nensebo, na Região de Oromia, utilizando técnicas de espectroscopia ultravioleta-visível e cromatografia líquida de

alta eficiência (CLAE). Os autores relataram que a absorção da cafeína ocorre a 272 nm.

Silva (2021) conduziu um estudo que buscou realizar uma investigação química mais abrangente dos subprodutos do café coletados em fazendas. Ao analisar o perfil metabólico das amostras, também foi identificado a presença de cafeína, com absorção em 272 nm, confirmando os dados dos estudos citados, além de destacar a predominância da cafeína na composição química do café.

Além disso, alguns cromatogramas revelaram um pico cromatográfico com TR em torno de 18min, apresentando um espectro UV com máxima absorção em 325 nm. Pesquisas anteriores, como a de Chang e colaboradores (2001), também observaram, em análises de café verde e torrado, bandas de absorção na faixa de 325 a 360 nm, associadas à presença de ácidos clorogênicos, que são os principais compostos fenólicos encontrados no café. Esses ácidos, que desempenham um papel importante na atividade antioxidante e na modulação do sabor do café, são formados por uma unidade de ácido quínico esterificada com ácidos cafeico, ferúlico ou *p*-cumárico, apresentando máximos de absorção UV em torno de 300 a 325 nm (Martucci et al., 2015).

Esquivel e colaboradores (2020) também realizaram uma investigação sobre os compostos presentes em subprodutos do café, destacando a presença de carotenoides e compostos fenólicos, como o ácido clorogênico, que foi detectado com uma absorbância em torno de 325 nm. Essa faixa de absorção é uma característica comum do ácido clorogênico, o qual também foi identificado por Torres (2015). Neste trabalho, o autor utilizou a técnica de HPLC-DAD-ESI-MS e observou a mesma absorção UV em 325 nm.

Adicionalmente, Almeida (2017) relatou a presença do ácido clorogênico em seu estudo sobre o perfil químico dos extratos das folhas de *Coffea arabica*, empregando a técnica de CLAE-IES-EM. Neste estudo, o espectro de absorção UV do ácido clorogênico também foi observado em torno de 325 nm.

Já o espectro de absorção UV analisado em um tempo de retenção de 20min revelou bandas de absorção em 240, 255 e 354 nm, sugerindo a presença de flavonoides, uma vez que esses compostos costumam exibir bandas de absorção na faixa de 240 a 280 nm, além de outra na região de 300 a 380 nm (Taniguchi et al., 2023).

Em um estudo conduzido por Bukhari e colaboradores (2009) sobre a síntese, caracterização e atividade antioxidante de complexos de cobre com quercetina, foi identificado que a quercetina exibe duas bandas de absorção distintas na região UV-Vis. A primeira, localizada entre 320 e 385 nm (Banda I: sistema cinamoil), refere-se à parte do sistema conjugado que conecta o anel B à carbonila do anel C. A segunda banda, com comprimento de onda entre 240 e 280 nm (Banda II: sistema benzoil), está associada a outra parte da estrutura da quercetina. Além disso, uma pesquisa conduzida por Simões e colaboradores (2013) detectou a absorbância da quercetina em 255 nm ao investigar a interação entre esse flavonoide, que possui reconhecidas propriedades biológicas, e o íon Ga (III). Esses resultados corroboram a faixa de absorção característica dos flavonoides, dentre eles, a quercetina.

Dessa forma, nas amostras de verão, é possível sugerir a presença de metilxantinas, como a cafeína, além de compostos fenólicos, incluindo o ácido clorogênico e flavonoides como a quercetina. Esses compostos apresentaram um perfil de absorção característico, semelhante ao de substâncias já identificadas no café, conforme demonstrado na Figura 26. No entanto, também foram detectadas outras absorbâncias dentro do intervalo típico de compostos fenólicos. Por outro lado, nas amostras de inverno, apenas a presença de metilxantinas, especificamente a cafeína, foi sugerida.

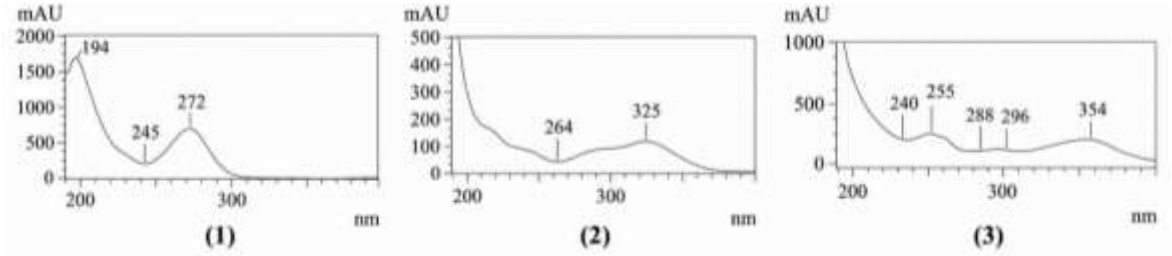


Figura 26: Espectro de absorção das substâncias sugeridas: (1) cafeína, (2) ácido clorogênico e (3) flavonoide.

5.2 Identificação de substâncias em *C. canephora*

A amostra Peneirão (17) coletada no verão apresentou um perfil químico diversificado na análise por CLAE-DAD, conforme dados apresentados anteriormente (seção 5.1). Dessa forma, essa amostra foi selecionada para ser

analisada por CLUE-ESI-MS visando a identificação dos metabólitos presentes por espectrometria de massas.

No cromatograma obtido a 254 e 320 nm foram identificados pelo menos dez picos, alguns mais intensos nos tempos de retenção (TR) de 1,4, 7,0 e 15,7min, bem como picos menores, conforme ilustrado na Figura 27.

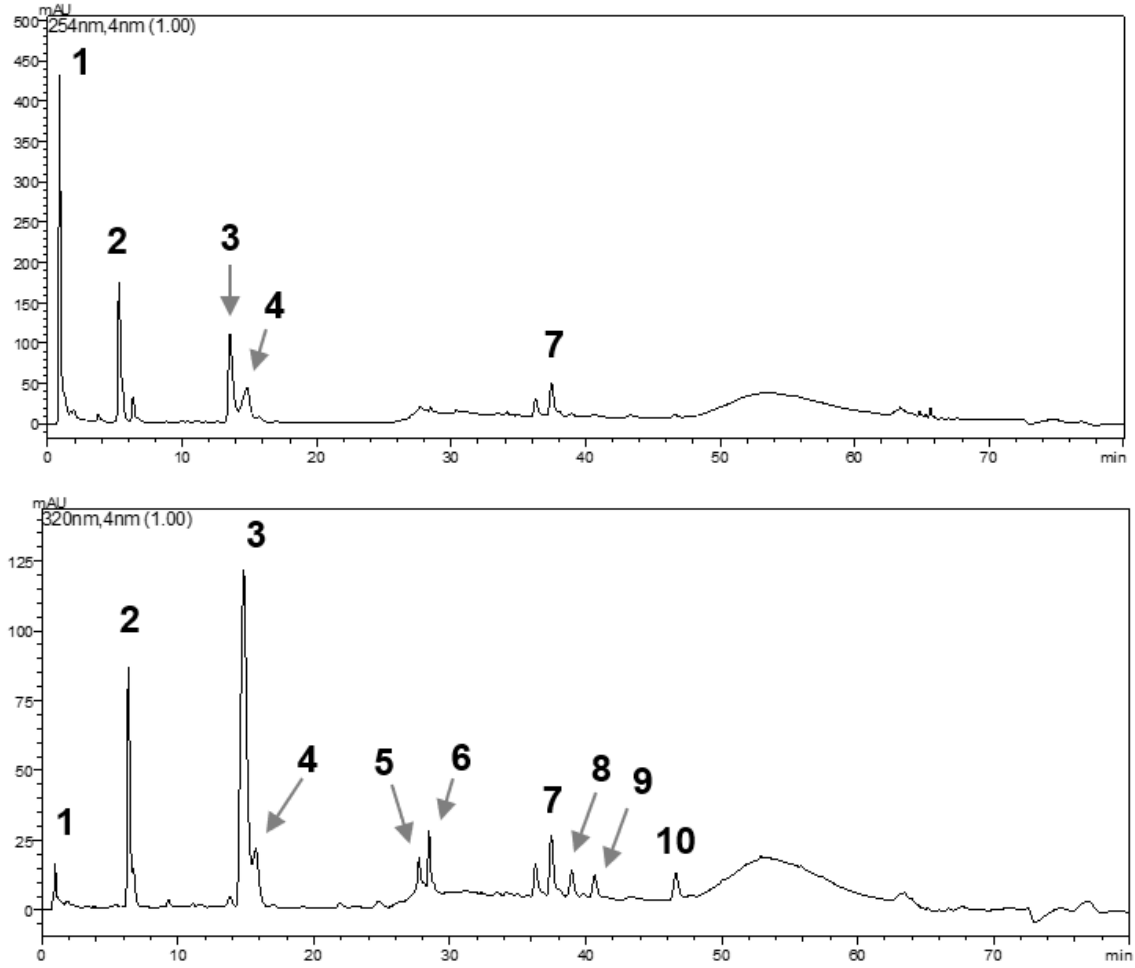


Figura 27: Cromatograma de UV obtido a 254 e 320 nm por CLUE da amostra Peneirão (17) coletada no verão.

O espectro de massas correspondente ao pico com TR de 1,4min revelou um íon molecular com m/z 191,0541 $[M-H]^-$, característico do ácido quínico (Lemos et al., 2020).

Os picos observados em 7,0, 15,7 e 15,8min apresentaram íons moleculares com valores próximos a m/z 353,0845 $[M-H]^-$. Os principais fragmentos identificados no espectro MS^2 de $[M-H]^-$ foram: m/z 191,0538 (100%); 135,0433 (65%); 179,0265 (42%); e 173,0383 (13%), correspondendo a fragmentos do ácido quínico, ácido cafeico, e à perda do grupo carboxila (-COOH), respectivamente.

Esses dados sugerem que as substâncias correspondam a isômeros do ácido clorogênico (Magaña et al., 2021).

Nos tempos de retenção de 28,1 e 28,9min, foram detectados íons moleculares próximos, com m/z 367,0918 $[M-H]^-$. Os fragmentos observados no espectro MS^2 de $[M-H]^-$ foram: m/z 173,0383 (100%); 191 (100%); 134,0319 (34%); e 193,0419 (21%), característicos do ácido feruloilquínico (Caleja et al., 2015).

Para os tempos de retenção de 37,0 e 38,3min, observaram-se íons moleculares com m/z 609,1275 $[M-H]^-$. Os fragmentos detectados no espectro MS^2 foram: m/z 609,1275 (100%) e 300,0147 (97%) referentes ao TR= 37min; e m/z 609,1274 (85%) e 300,0147 (100%) referentes ao TR= 38,3min. Esses fragmentos são condizentes com os dados da literatura para a rutina (Lima et al., 2024).

Identificou-se um íon molecular com m/z 515,1127 $[M-H]^-$ para o tempo de retenção de 41,7min. Os fragmentos obtidos no espectro MS^2 foram: m/z 191,0535 (100%); 179,0348 (57%); e 353,0827 (22%), sugerindo que a substância identificada se trata do ácido dicafeoilquínico. De maneira semelhante, no tempo de retenção de 48min, observou-se um íon molecular com m/z 515,1132, com os mesmos fragmentos anteriormente mencionados, reforçando a hipótese de que se trata da substância ácido dicafeoilquínico ou a um isômero (Babova et al., 2016).

No entanto, para os tempos de retenção em 30,9, 34,8 e 64min, os dados gerados pelo equipamento não foram suficientes para propor a identificação das substâncias.

Estudos anteriores sobre *Coffea canephora* (Rodrigues et al., 2015; Babova et al., 2016; Lemos et al., 2020) já identificaram essas substâncias, o que demonstra que o presente estudo está alinhado com a literatura existente. A Tabela 6 apresenta um resumo dos resultados obtidos e a proposta de identificação das substâncias. Os espectros de massas de todos os picos identificados estão disponíveis no Apêndice.

Tabela 6: Proposta de identificação das substâncias presentes na amostra Peneirão (17) de *C. canephora.*

TR (min)	m/z experimental	m/z teórico	Erro (ppm)	Fórmula molecular	Fragmentos	Proposta de identificação	Referência
1,4	191.0541 [M-H]$^-$ 383.1108 [2M-H]-	191.0554	-6.80	$C_7H_{12}O_6$	-	ácido quínico	Lemos et al., 2020.
7,0	353.0845 [M-H]- 375.0648 [M+Na-2H]- 707.1637 [2M-H]-	353.0871	-7.36	$C_{16}H_{18}O_9$	**191**; 135; 179	ácido clorogênico (isômero)	Babova et al., 2016. Magaña et al., 2021.
15,7	353.0838 [M-H]- 707.1635 [2M-H]-	353.0871	-9.35	$C_{16}H_{18}O_9$	**191**; 173; 135	ácido clorogênico (isômero)	Caleja et al., 2015.
15,8	353.0841 [M-H]- 707.1635 [2M-H]-	353.0871	-8.50	$C_{16}H_{18}O_9$	**191**	ácido clorogênico (isômero)	Caleja et al., 2015.
28,1	367.0918 [M-H]-	367.1028	-29.97	$C_{17}H_{20}O_9$	**173;** 134; 193	ácido feruloilquínico	Caleja et al., 2015.
28,9	367.0973 [M-H]-	367.1028	-14.98	$C_{17}H_{20}O_9$	**191;** 193; 134; 173	ácido feruloilquínico	Caleja et al., 2015.
37,0	609.1275 [M-H]-	609.1454	-29.54	$C_{27}H_{30}O_{16}$	**609**; 300	rutina	Lima et al., 2024.
38,3	609.1274 [M-H]-	609.1454	-29.55	$C_{27}H_{30}O_{16}$	**300**; 609	rutina	Lima et al., 2024.
41,7	515.1127 [M-H]-	515.1188	-11.84	$C_{25}H_{24}O_{12}$	**191**; 179; 353	ácido dicafeoilquínico	Babova et al., 2016.
48,0	515.1132 [M-H]-	515.1188	-10.87	$C_{25}H_{24}O_{12}$	**173**; 353; 135	ácido dicafeoilquínico	Babova et al., 2016.

5.3 Determinação do teor de fenólicos totais

5.3.1 Método de Folin-Ciocalteu

Os extratos aquosos das folhas de *Coffea canephora* foram avaliados quanto ao teor de fenólicos totais. A quantificação da reação do reagente Folin-Ciocalteu com os compostos fenólicos presentes nos extratos foi realizada com base na equação da reta obtida a partir da curva padrão de ácido gálico, expressa como Y = 0,006x + 0,2345, apresentando um coeficiente de determinação R^2 = 0,9934. Este valor de R^2 indica uma boa adequação do modelo aos dados observados, demonstrando que a metodologia utilizada para quantificar os fenólicos totais nos extratos mostrou-se confiável.

Os resultados indicaram que as amostras coletadas no verão apresentaram um maior teor de fenólicos totais em comparação às amostras obtidas no inverno. Dentre os genótipos analisados, o LB1 (36), Peneirão (17) e L80 (14) se destacaram em relação aos demais, como demonstrado na Figura 28.

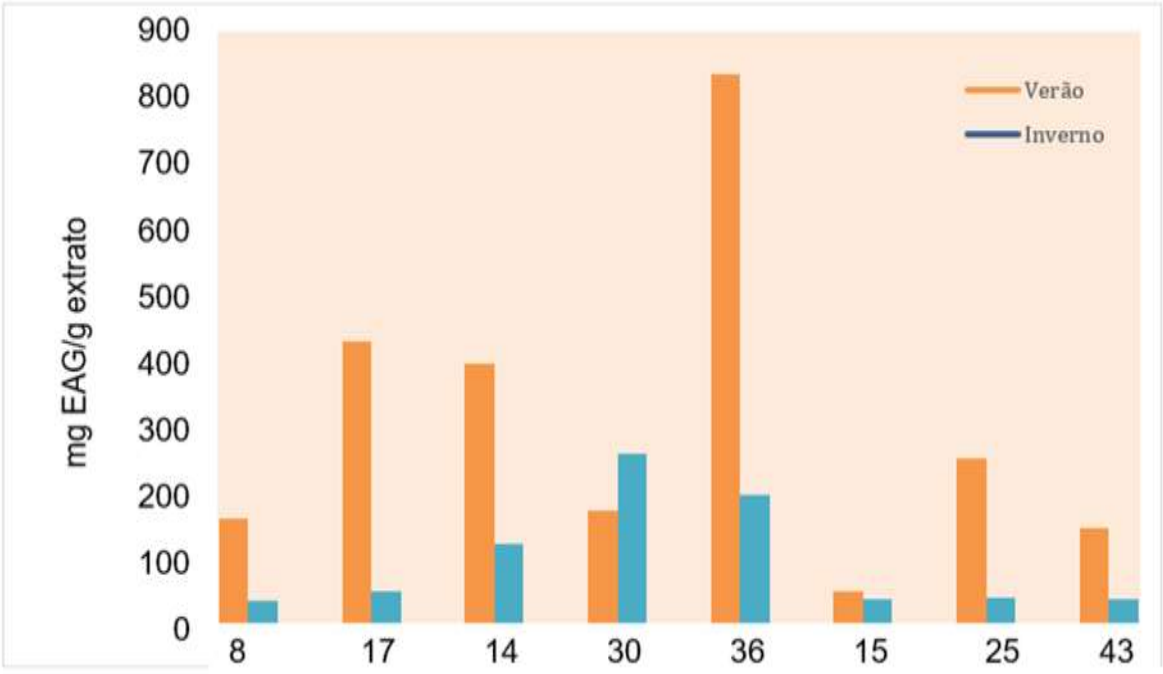


Figura 28: Concentração de fenólicos totais nas folhas de diferentes genótipos de *C. canephora*.

O teor de fenólicos totais nas amostras coletadas durante o verão variou de 59,02 a 836,35 mg EAG/g de extrato, enquanto nas amostras do inverno essa

variação foi de 46,35 a 265,02 mg EAG/g de extrato. A Tabela 7 apresenta um compilado das concentrações para todas as amostras analisadas.

Tabela 7: Teor de fenólicos totais determinados pelo método de Folin- Ciocalteu.

Genótipos	Teor de Fenólicos Totais (mg EAG/g de extrato)	
	Verão	Inverno
AT (8)	167,69 ± 15,6 [a]	46,35 ± 2,8 [c]
L80 (14)	401,47 ± 12,2	129,69 ± 3,4 [e]
Bamburral (15)	59,02 ± 5,0 [c]	48,58 ± 3,0 [c]
Peneirão (17)	435,02 ± 9,1	58,80 ± 7,0 [c]
Z21 (25)	257,69 ± 3,2 [d]	49,91 ± 4,4 [c]
A1 (30)	179,47 ± 0,7 [ab]	265,02 ± 27,8 [d]
LB1 (36)	836,35 ± 2,1	204,35 ± 3,2 [b]
C. arabica (43)	153,24 ± 5,2 [ae]	47,02 ± 5,0 [c]

*Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey, (p>0,05)

Pode-se observar concentrações expressivas de fenólicos totais, o que também foi observado nos resultados de Nascimento (2022), que encontrou variações de 241,70 a 816,70 mg EAG/g extrato de folhas de café. A presença de compostos fenólicos nos extratos de café aumenta sua atividade antioxidante, conforme apontado por Pinheiro e colaboradores (2021). Essa atividade antioxidante desempenha um papel crucial na proteção das células contra o estresse oxidativo, que é um fator relevante no desenvolvimento de diversas doenças crônicas. Além disso, a ingestão de alimentos ricos em compostos fenólicos tem sido associada a uma série de benefícios à saúde, incluindo a proteção contra doenças degenerativas, cardiovasculares e câncer (Silva et al., 2022).

Embora a determinação da composição fenólica por meio do método de Folin-Ciocalteau seja bastante simples, reprodutível e econômica, um dos principais desafios na interpretação dos resultados é a baixa especificidade desse método, o que pode justificar valores expressivos de teor de fenólicos totais encontrados nos genótipos. Este reagente pode reagir com outras substâncias presentes nas

amostras, devido a presença de interferentes como aminas aromáticas, cobre (I) ou ferro (II), e altos níveis de açúcares, resultando em interferências no teor de compostos fenólicos (Huang et al., 2021).

Ao comparar estatisticamente os genótipos, pode-se observar que as médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey, ou seja, são estatisticamente iguais ($p>0,05$), enquanto as médias sem denominação de letras ou com letras diferentes, apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p<0,001$), sugerindo diferenças sazonais e/ou genotípicas entre esses genótipos.

5.3.2 Método Fast Blue BB

Os extratos aquosos das folhas de *C. canephora* foram submetidos à análise do teor de fenólicos totais utilizando o método Fast Blue BB. Este método é reconhecido por sua simplicidade e rapidez, além de ser eficiente na detecção de fenólicos e polifenólicos, eliminando ou diminuindo possíveis interferentes. A quantificação da interação do reagente Fast Blue BB com os compostos fenólicos nos extratos foi realizada através da equação da curva padrão do ácido gálico, representada pela equação Y = 0,0051x + 0,0053, como consta na Figura 29.

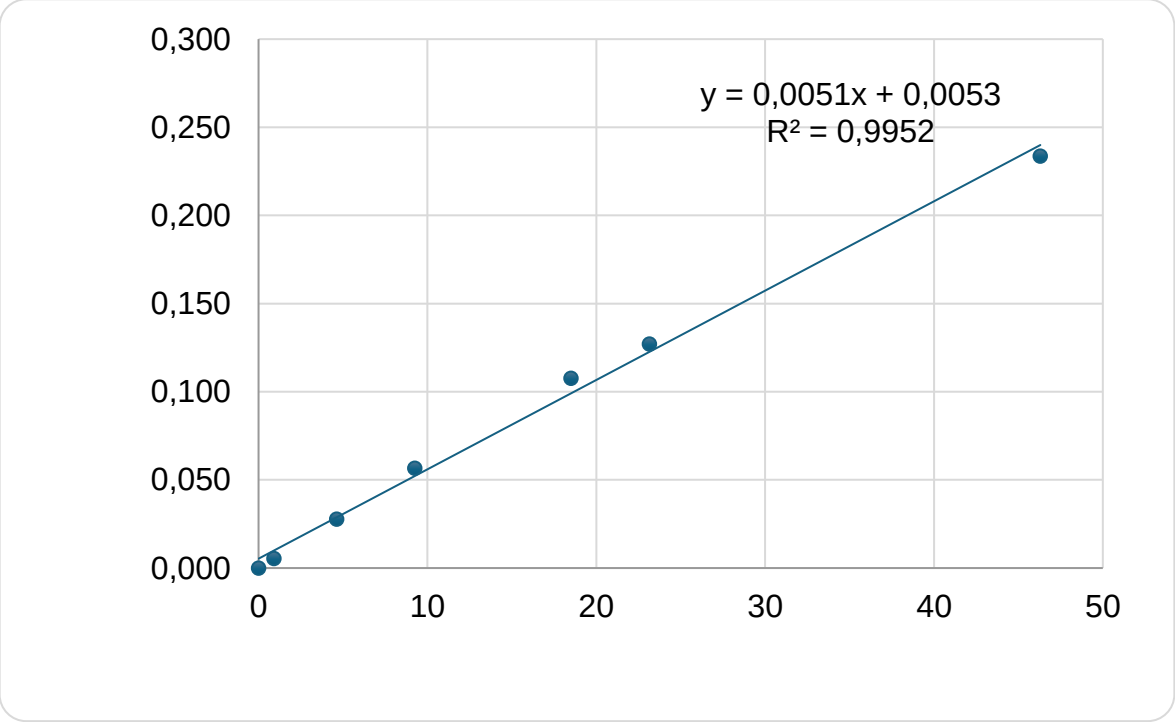


Figura 29: Curva padrão do ácido gálico para determinação do teor de fenólicos totais pelo método Fast Blue BB.

Os resultados demonstraram que as amostras coletadas durante o verão apresentaram um teor total de fenólicos superior em comparação às amostras coletadas no inverno, com destaque para o genótipo LB1 (36). Por outro lado, o genótipo (30) demonstrou resultados semelhantes nas duas estações, como pode ser observado na Figura 30.

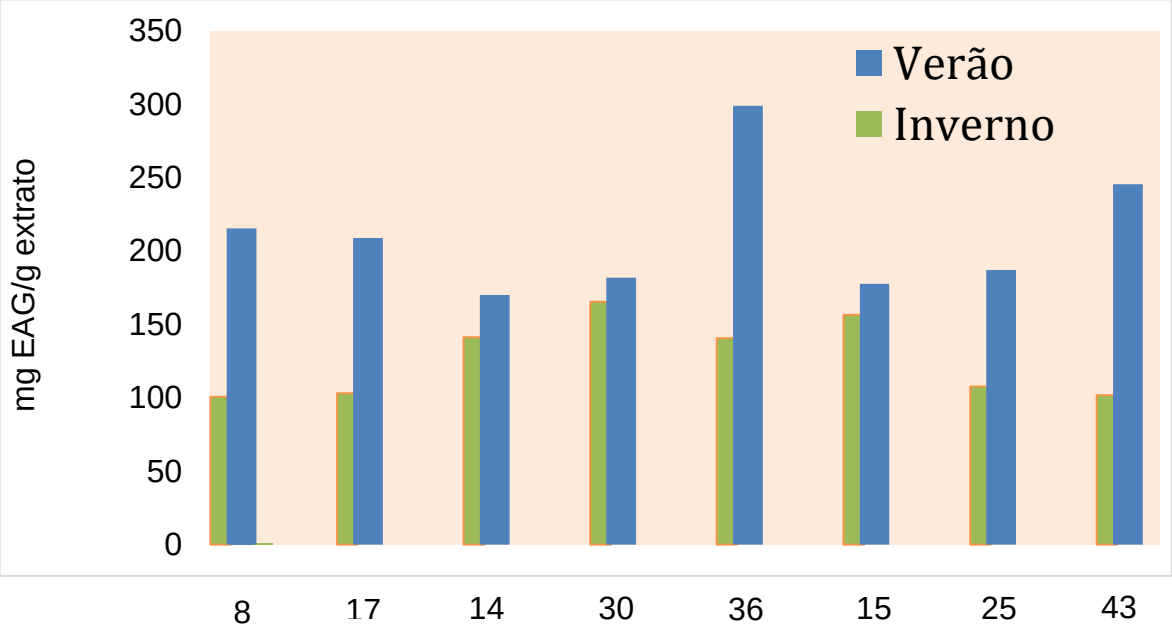


Figura 30: Concentração de fenólicos totais pelo método Fast Blue BB nas amostras de diferentes genótipos de *C. canephora*.

O teor de fenólicos totais nas amostras coletadas no verão variou de 170,06 a 298,88 mg EAG/g de extrato, enquanto nas amostras do inverno a variação foi de 100,65 a 165,35 mg EAG/g de extrato. A Tabela 8 apresenta um compilado das concentrações para todas as amostras analisadas.

Tabela 8: Teor de fenólicos totais determinados pelo método Fast Blue BB.

Genótipos	Teor Fenólicos Totais (mg EAG/g de extrato)	
	Verão	Inverno
AT (8)	215,35 ± 5,4 [a]	100,65 ± 2,0 [e]
L80 (14)	170,06 ± 1,0 [c]	141,23 ± 1,0 [f]
Bamburral (15)	177,70 ± 15,4 [c]	156,53 ± 6,4 c [f]
Peneirão (17)	208,88 ± 9,1 [a b]	103, 00 ± 11,7 [e]
Z21 (25)	187,11 ± 16,7 [b c]	107,70 ± 16,4 [e]
A1 (30)	281,82 ± 4,7 [d]	165,35 ± 1,8 c [f]
LB1 (36)	298,88 ± 8,9 [d]	140,65 ± 7,7 [f]
C. arabica (43)	245,35 ± 5,7	101,82 ± 10,6 [e]

*Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey, (p>0,05)

Azambuja (2023) utilizou o método Fast Blue BB para determinar a concentração de fenólicos totais em coprodutos como farelo de arroz e arroz quebrado. Os compostos fenólicos presentes nesses materiais demonstraram benefícios à saúde quando incorporados à alimentação de diversas categorias de consumidores, destacando-se por sua capacidade antioxidante. Os resultados da análise também foram expressos em mg EAG/g extrato.

O método Fast Blue BB apresenta como uma das suas principais vantagens a capacidade de eliminar interferentes não fenólicos, um problema ocorrente na metodologia de Folin-Ciocalteu. Conforme destacado por Medina (2011b), essa eliminação contribui para uma provável obtenção de valores mais altos de fenólicos utilizando o método de Folin-Ciocalteu. Apesar das diferenças metodológicas, ambos os métodos demonstraram um padrão semelhante de quantificação entre os diferentes genótipos analisados, uma vez que os mesmos genótipos se destacaram em termos de teor de fenólicos totais em ambos os métodos. Essa coerência nos resultados sugere a efetividade das abordagens na análise do conteúdo fenólico.

Os resultados, que confirmam os obtidos pelo método de Folin-Ciocalteu, foram comparados estatisticamente. É observado que as médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey, ou seja, são estatisticamente

iguais (p>0,05), enquanto as médias sem letras ou com letras diferentes, apresentaram diferenças estatísticas significativas (p< 0,001), sugerindo diferenças sazonais e/ou genotípicas entre essas amostras.

5.4 – Atividade antioxidante

5.4.1 Por sequestro do radical DPPH

Os extratos aquosos das folhas de diferentes genótipos de *Coffea canephora,* coletados durante os períodos de inverno e verão, foram submetidos à análise de seu potencial antioxidante utilizando o método DPPH. Os resultados obtidos pelo método DPPH estão apresentados na Tabela 9 e 10.

Tabela 9: Valores de inibição (%) do radical DPPH pelas amostras de *C. canephora* coletadas no verão.

Genótipos	Concentrações testadas (µg/mL)				
	62,5	125	250	375	500
AT (8)	63,05 ±0,1	70,60 ± 0,2	82,94 ± 0,8	91,25 ± 0,2	91,62 ± 0,3
L80 (14)	55,97 ± 0,1	66,47 ± 0,2	86,94 ± 0,1	93,92 ± 0,0	94,29 ± 0,0
Bamburral (15)	54,88 ± 0,1	55,23 ± 0,2	60,90 ± 0,2	61,99 ± 0,2	68,59 ± 0,1
Peneirão (17)	63,21 ± 1,3	73,53 ± 0,2	89,98 ± 0,4	92,71 ± 0,7	93,05 ± 0,2
Z21 (25)	56,03 ± 0,2	62,98 ± 0,2	75,99 ± 0,3	78,15 ± 0,4	94,06 ± 0,1
A1 (30)	51,73 ± 0,5	53,19 ± 1,8	57,61 ± 0,3	62,74 ± 0,2	70,60 ± 0,9
LB1 (36)	73,77 ± 0,2	92,83 ± 0,0	93,61 ± 0,1	93,90 ± 0,1	94,45 ± 0,2
Arabica (43)	56,01 ± 0,1	58,76 ± 0,3	69,37 ± 1,2	77,82 ± 0,2	85,78 ± 0,3

Tabela 10: Valores de inibição (%) do radical DPPH pelas amostras de *C. canephora* coletadas no inverno.

Genótipos	Concentrações testadas (µg/mL)				
	62,5	125	250	375	500
AT (8)	54,88 ± 0,3	57,74 ± 0,4	63,93 ± 0,4	66,35 ± 0,3	70,02 ± 0,1
L80 (14)	51,15 ± 0,3	54,87 ± 0,1	61,00 ± 0,1	66,03 ± 0,2	69,19 ± 0,2
Bamburral (15)	52,58 ± 0,4	53,52 ± 0,1	55,23 ± 0,3	60,60 ± 0,3	65,51 ± 0,1
Peneirão (17)	53,57 ± 1,3	54,72 ± 0,2	59,66 ± 0,4	60,49 ± 0,7	65,31 ± 0,2
Z21 (25)	54,20 ± 0,8	55,31 ± 0,1	61,75 ± 0,3	63,93 ± 0,1	65,76 ± 0,7
A1 (30)	47,29 ± 0,2	49,96 ± 0,4	56,65 ± 0,3	59,25 ± 0,3	62,21 ± 0,2
LB1 (36)	55,17 ± 0,4	58,31 ± 0,1	64,26 ± 0,3	64,93 ± 0,2	76,81 ± 0,2
Arabica (43)	52,39 ± 0,2	56,01 ± 0,1	59,96 ± 0,2	63,33 ± 0,6	67,85 ± 0,2

De maneira geral, os extratos de folhas coletadas durante o verão mostraram uma inibição mais significativa do radical DPPH, resultando em uma maior atividade antioxidante em todas as concentrações testadas, quando comparados aos extratos obtidos no inverno. Esse aumento na atividade antioxidante pode ser atribuído à maior concentração de compostos fenólicos nas folhas coletadas no verão. Os genótipos cujas folhas foram coletadas no inverno mostraram uma menor inibição do radical DPPH, especialmente nas concentrações mais baixas testadas, como as de 125 e 250 µg/mL, alcançando uma porcentagem de inibição um pouco superior a 50%.

Entre os genótipos, a amostra LB1 (36) apresentou o maior potencial antioxidante em todas as concentrações testadas, o que também se relaciona a uma maior concentração de compostos fenólicos nesse genótipo em comparação

aos demais. A Figura 31 mostra a inibição (%) do radical DPPH frente às amostras testadas.

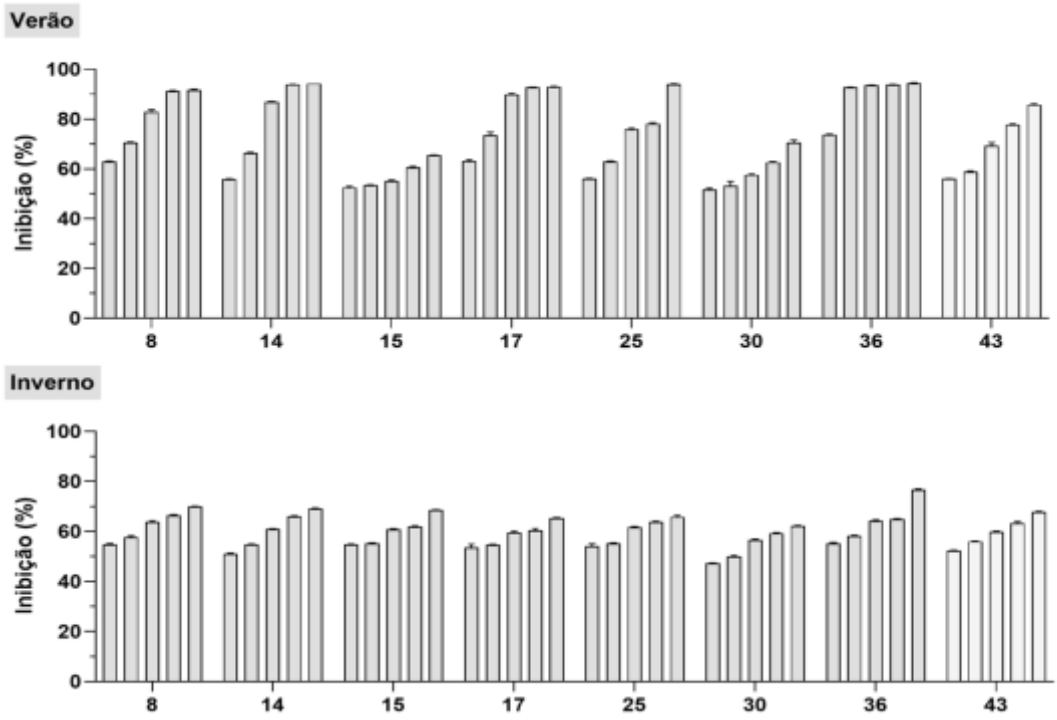


Figura 31: Inibição (%) do radical DPPH pelas amostras de *C. canephora* coletadas no verão e no inverno.

Todas as amostras foram comparadas ao controle positivo (BHT), e observou-se uma diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em quase todas as concentrações testadas, com exceção da amostra L80 (14) do verão, na concentração de 250 µg/mL. Entretanto, as amostras AT (8), L80 (14), Peneirão (17), Bamburral (15) e LB1 (36) do verão, nas concentrações mais elevadas, apresentaram um nível de inibição do radical DPPH superior ao do controle positivo.

Segundo Cheng e Yu (2006), para que uma amostra apresente um potencial antioxidante, é necessário que reduza em pelo menos 50% a concentração inicial do DPPH. Observou-se que todas as amostras, com exceção da amostra A1 (30) do inverno, apresentaram porcentagens de inibição superiores a 50%.

O butil hidroxitolueno (BHT) foi utilizado como controle positivo nessa análise, uma vez que é uma substância amplamente reconhecida como antioxidante sintético (Mira-Sánchez; Castillosánchez; Morillas-Ruiz, 2020). Nesse contexto, os compostos fenólicos têm despertado grande interesse na comunidade

científica devido ao seu elevado poder antioxidante, capaz de neutralizar radicais livres e proporcionar diversos benefícios à saúde (Muflihah et al., 2021).

Os genótipos do verão mostraram maiores porcentagens de inibição e menores concentrações necessárias para alcançar a inibição de 50% do radical DPPH, o que indica uma maior atividade antioxidante. Os genótipos Bamburral (15) e A1 (30) apresentaram valores de IC_{50} maiores que 100 µg/mL, tanto no inverno quanto no verão. Ao comparar os genótipos que mostraram valores de IC_{50} inferiores a 100 µg/mL, observou-se que houve diferença estatística significante entre eles ($p > 0,001$), conforme observado na Tabela 11.

Tabela 11: IC_{50} (µg/mL) dos extratos aquosos de *C. canephora* para o ensaio de DPPH•.

Genótipos	IC_{50} (µg/mL)	
	Verão	Inverno
AT (8)	42,98 ± 1,05 [a]	>100
L80 (14)	48,41 ± 1,07 [b]	>100
Bamburral (15)	>100	>100
Peneirão (17)	37,3 ± 1,04 [c]	>100
Z21 (25)	64,01 ± 1,08 [d]	>100
A1 (30)	>100	>100
LB1 (36)	18,69 ± 1,09 [e]	>100
C. arabica	77,31 ± 1,10	>100

*Todos os resultados apresentaram diferença estatística pelo Teste de Tukey ($p<0,001$)

No que diz respeito aos valores do IC_{50}, as amostras LB1 (36), Peneirão (17) e AT (8) se destacaram, apresentando valores de IC_{50} de 18,69, 37,30 e 42,98 µg/mL, respectivamente. Em contraste, os genótipos coletados no inverno apresentaram IC_{50} superiores a 100 µg/mL, o que significa que necessitam de concentrações mais altas do que as amostras do verão para inibir 50% da quantidade inicial do DPPH.

5.4.2 Potencial redutor de íons férricos (FRAP)

Os extratos aquosos das folhas de *Coffea canephora* foram analisados quanto ao seu potencial antioxidante utilizando o método FRAP *(Ferric Reducing*

Antioxidant Power). A redução dos íons férricos (Fe^{3+}) a íons ferrosos (Fe^{2+}) nos extratos foi quantificada com base na equação da reta obtida a partir da curva padrão do ácido gálico (R^2=0,9965), de acordo com a Figura 32.

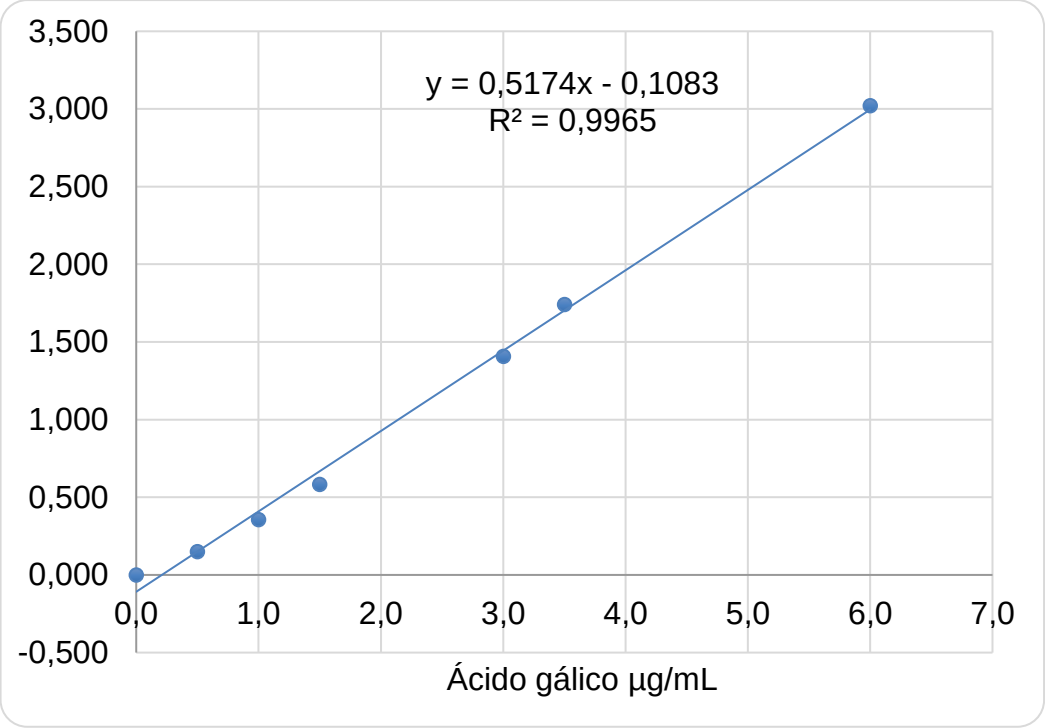


Figura 32: Curva padrão do ácido gálico utilizada na avaliação do potencial antioxidante pelo método FRAP

Pela curva de calibração foi possível determinar a concentração de Fe^{2+} presente nas soluções dos extratos. Uma vantagem de se utilizar o ácido gálico é a sua versatilidade em aplicações antioxidantes, sendo um padrão de baixo custo e fácil manuseio (Badhani et al., 2015). Nas amostras de verão, a concentração de mg EAG/g variou de 6,68 a 33,063 mg EAG/g, enquanto nas amostras de inverno, a variação foi de 5,20 a 9,663 mg EAG/g. Os resultados obtidos foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG/g) e estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Potencial antioxidante dos extratos de folhas de *C. canephora* avaliado pelo método FRAP.

Genótipos	Teor Fenóis Totais (mg EAG/g de extrato)	
	Verão	Inverno
AT (8)	15,25 ± 0,1	7,22 ± 0,1 [a b]
L80 (14)	11,25 ± 0,1	9,66 ± 0,3 [c]
Bamburral (15)	6,63 ± 0,0 [d]	5,20 ± 0,2 [a]
Peneirão (17)	19,47 ± 0,2	8,19 ± 1,1 [e]
Z21 (25)	10,31 ± 0,0 [c]	5,55 ± 0,0 [d]
A1 (30)	6,68 ± 0,0 [a]	7,89 ± 0,0 b e
LB1 (36)	33,06 ± 0,9	8,03 ± 0,4 [e]
C. arabica (43)	10,41 ± 0,0 [c]	8,26 ± 0,0 [e]

*Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey, (p>0,05)

Pode-se observar que os extratos das folhas de *C. canephora* coletados durante o verão apresentaram uma concentração superior em comparação às amostras coletadas no inverno, indicando um maior poder redutor de íons férricos e, consequentemente, um maior potencial antioxidante nas amostras de verão.

Estatisticamente, ao comparar os genótipos, observou-se diferenças significativas entre aqueles representados por letras distintas ($p<0,001$), indicando que esses genótipos respondem de maneira diferente às variações sazonais. Por outro lado, as amostras identificadas pela mesma letra não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si ($p>0,05$). Isso sugere que os extratos coletados tanto no verão quanto no inverno possuem um potencial antioxidante equivalente para este genótipo, conforme avaliado pelo método FRAP.

Dentre as amostras avaliadas, a amostra LB1 (36) destacou-se por apresentar o maior poder de redução dos íons férricos, seguida pelas amostras Peneirão (17) e AT (8), o que também foi confirmado pelas avaliações de atividade antioxidante realizadas pelo método DPPH.

O método FRAP apresenta várias vantagens, como a rapidez, reprodutibilidade e simplicidade. Contudo, ele possui algumas limitações. Por exemplo, nem todo agente redutor capaz de converter Fe^{3+} em Fe^{2+} é, de fato, um

antioxidante, e nem todo antioxidante tem a capacidade específica de realizar essa redução (Prior et al., 2005). Um outro fator a ser considerado, é que a presença de altos níveis de açúcares redutores pode interferir na avaliação do potencial antioxidante utilizando o método FRAP, ocasionando assim possíveis interferências nos resultados (Ferreira et al., 2009).

Estudos como o de Ribeiro (2019) que exploraram o potencial do café, tanto na forma de grão torrado quanto na borra, em relação às suas propriedades antioxidantes. Para avaliar a atividade antioxidante, o autor utilizou diversos métodos, dentre os quais se destaca o método FRAP. Os resultados indicaram que, em ambas as análises, o café se mostrou uma fonte útil de biomoléculas antioxidantes. Da mesma forma, Nogueira (2023) investigou as atividades antioxidante em extratos de células-tronco vegetais, provenientes de calos obtidos a partir de folhas de *C. canephora*. Neste estudo, o método FRAP também foi empregado e revelou potencial antioxidante em uma das amostras analisadas.

A capacidade antioxidante dos extratos é influenciada por diversos fatores, incluindo a composição química, o sistema de teste utilizado, as condições em que as reações acontecem e a maneira como os resultados são apresentados. Diante disso, a avaliação do potencial antioxidante das amostras por diferentes métodos se revela fundamental, uma vez que isso pode proporcionar maior robustez aos resultados (Frankel e Meyer, 2000). Os resultados obtidos demonstram a importância das condições sazonais na composição dos extratos, sugerindo que fatores climáticos podem influenciar a atividade antioxidante das folhas de *Coffea canephora.*

5.5 Relação entre o potencial antioxidante e o teor de fenólicos totais de *Coffea canephora*

As Figuras 33 e 34 ilustram a relação entre o teor de compostos fenólicos totais e o potencial antioxidante de todas as amostras testadas. Essa atividade foi medida pela inibição do radical DPPH, expressa em valores de IC_{50}, e pelo poder redutor de íons férricos (FRAP).

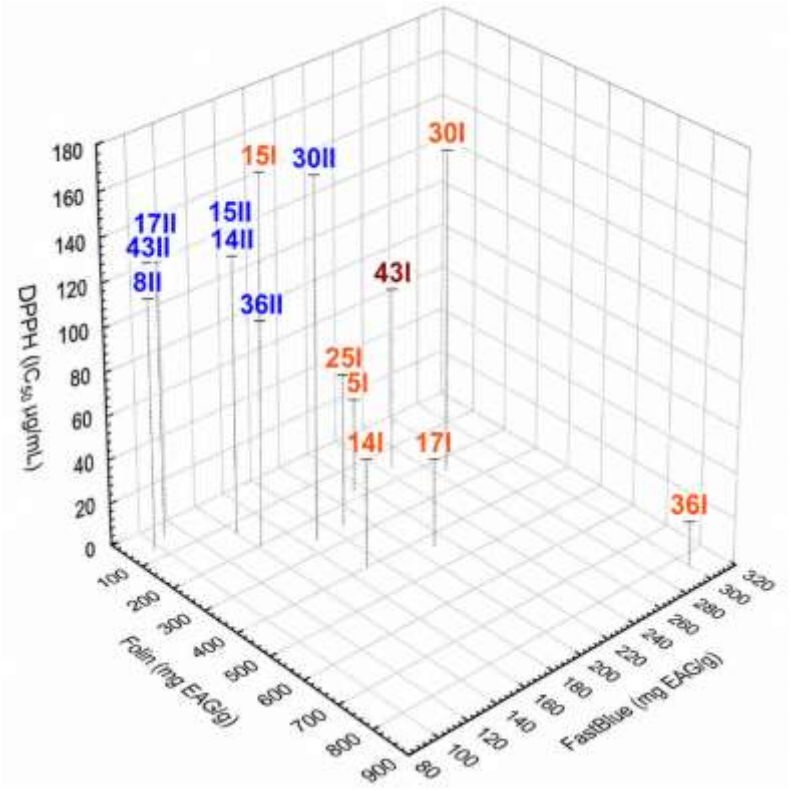


Figura 33: Relação entre o potencial antioxidante por sequestro de radicais livres (método DPPH) e o teor de compostos fenólicos totais, determinados pelos métodos de Folin-Ciocalteu e Fast Blue BB.

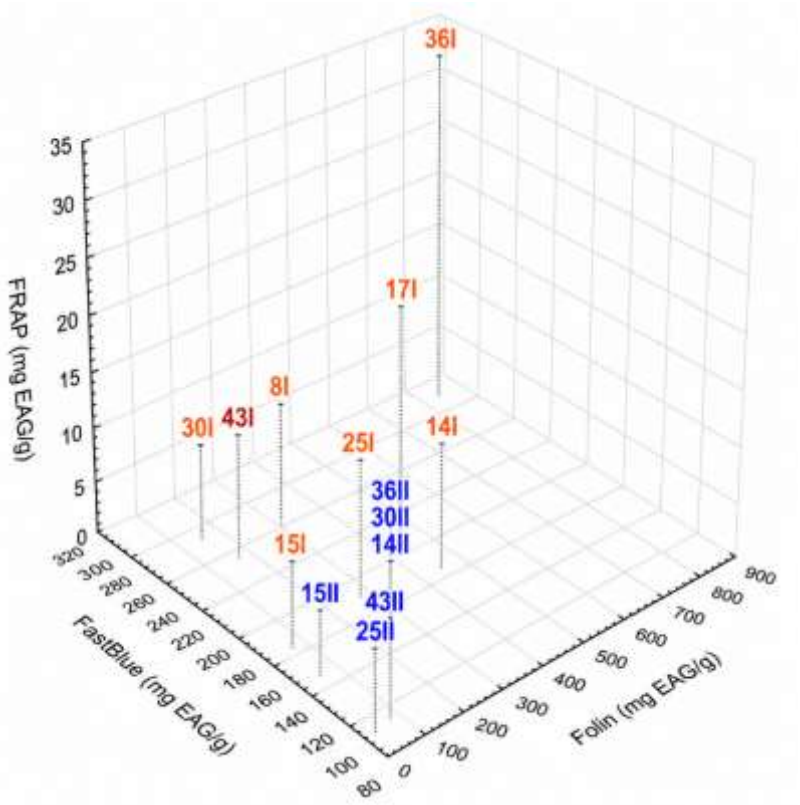


Figura 34: Relação entre o potencial antioxidante por poder de redução de íons férricos (método FRAP) e o teor de compostos fenólicos totais, determinados pelos métodos de Folin-Ciocalteu e Fast Blue BB.

Observou-se uma relação direta entre os teores de compostos fenólicos e a atividade antioxidante das amostras. Os genótipos LB1 (36), Peneirão (17) e AT (8) apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos, correlacionando-se com as mais altas atividades antioxidantes nos métodos de inibição do radical DPPH e de redução de íons férricos (FRAP). Por outro lado, os genótipos A1 (30) e Bamburral (15) demonstraram um baixo potencial antioxidante, apesar de apresentarem consideráveis teores de compostos fenólicos segundo o método Fast Blue BB. Essa diferença pode ser atribuída à influência de outros compostos bioativos detectados por esse método (Souza et al., 2018).

Os compostos fenólicos têm despertado grande interesse na comunidade científica devido ao seu elevado poder antioxidante, capaz de neutralizar radicais livres e proporcionar diversos benefícios à saúde (Muflihah et al., 2021). A presença de moléculas com atividade antioxidante nas folhas de café não apenas sugere um potencial para a promoção da saúde humana, mas também pode desempenhar um papel crucial na proteção da planta contra estresses ambientais, como a exposição a patógenos, condições adversas, danos provocados por radicais livres e radiação (Liu et al., 2018). O potencial antioxidante das folhas de café foi avaliado por Almeida (2017), que encontrou resultados semelhantes, evidenciando a capacidade dos extratos de folhas de café em neutralizar o radical DPPH.

5.6 Relação entre os genótipos, diversidade genética e perfil metabólico

Os genótipos analisados neste estudo foram selecionados com base na pesquisa de Souza (2023), que avaliou a diversidade genética de 45 genótipos de *Coffea canephora* utilizando marcadores moleculares SSR (microssatélites). Os genótipos escolhidos apresentaram maior variabilidade genética, uma característica fundamental para o sucesso de programas de melhoramento, pois permite a seleção, adaptação e inovação.

A diversidade genética elevada em *Coffea canephora* resulta de sua incompatibilidade gametofítica e da polinização cruzada, que geram populações heterozigotas. Souza (2023) observou que a heterozigosidade observada ultrapassou a esperada, indicando um excesso de heterozigotos, possivelmente devido à reprodução cruzada natural da espécie. Isso favorece a troca de alelos entre indivíduos, minimizando a perda genética e garantindo maior diversidade, o

que torna esses genótipos alvos promissores para programas de melhoramento (Vieira et al., 2024).

As análises bayesianas e o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) também ajudaram a classificar os genótipos em grupos genéticos distintos, evidenciando que cada um possui características genéticas únicas que influenciam a expressão de vias metabólicas específicas (Góes, 2014).

Neste estudo, os genótipos selecionados mostraram concentrações significativas de compostos fenólicos e atividade antioxidante, com variações que foram influenciadas por fatores sazonais. Vieira e colaboradores (2024) ressaltam que genótipos com diversidade genética têm uma maior capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, o que pode impactar na produção de metabólitos.

Entre os genótipos com maior variabilidade genética, os identificados como LB1, AT e Peneirão se destacaram em grande parte das análises químicas realizadas nesse trabalho. Os resultados mostram a influência genotípica no perfil químico das folhas de *Coffea canephora*. Apesar de todos os genótipos analisados apresentarem considerável variabilidade genética, a divergência funcional dos alelos presentes pode estar mais relacionada à produção de compostos fenólicos, o que justifica um maior teor desses compostos em tais genótipos. Adicionalmente, características morfológicas, como maior densidade de tricomas ou aumento da área foliar, podem melhorar a absorção de luz e ativar vias metabólicas fotoprotetoras, resultando em níveis elevados de metabólitos secundários (Bottignon, 2009).

6. CONCLUSÕES

Os resultados revelam diferenças sazonais e genotípicas no perfil metabólico e potencial antioxidante das folhas de café. A maior concentração de substâncias fenólicas nas amostras coletadas durante o verão, pode ser atribuído às reações metabólicas intensificadas pela elevada incidência solar, altas temperaturas e umidade, condições características dessa estação.

O destaque do genótipo LB1 (36) nas análises realizadas pode estar relacionado à divergência funcional dos alelos presentes nesse genótipo, bem como características morfológicas, como maior densidade de tricomas e aumento da área foliar. Essas características podem melhorar a absorção de luz e ativar vias metabólicas, resultando em níveis elevados de metabólitos secundários.

Todos os genótipos analisados apresentaram atividade antioxidante, sendo que as amostras do verão mostraram um potencial antioxidante superior em comparação às do inverno. As substâncias identificadas neste trabalho, como o ácido quínico, ácido clorogênico, ácido feruloilquínico, rutina e ácido dicafeoilquínico, já foram previamente identificadas no café.

Dessa forma, as folhas de *Coffea canephora* se apresentam como uma valiosa fonte de compostos fenólicos e cafeína, justificando seu uso na preparação de chás e sua viabilidade de aplicação como matéria-prima na indústria farmacêutica. A valorização das folhas dessa planta não só representa uma alternativa promissora para o investimento em novas pesquisas, mas também aponta para a importância de explorar a diversidade genética da espécie. A alta heterozigosidade, características morfológicas específicas e a alocação em grupos genéticos distintos podem contribuir para a variação na produção de metabólitos entre os genótipos de *Coffea canephora*. Isso evidencia a relevância de estudos sobre a interação entre variabilidade genética e perfil químico em espécies de importância econômica, como o café conilon.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Associação Brasileira da Indústria de Café (2021) Recomendações técnicas da ABIC. Disponível em: https://www.abic.com.br/recomendacoes-tecnicas/recomendacoes-tecnicas-da-abic/. Acesso em: 19 de novembro de 2024.

Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., Appel, K.E. (2011) Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. Molecular Nutrition & Food Research, 55:667-678. DOI doi.org/10.1002/mnfr.201000564.

Adane, L., Tadesse, A., Tesfaye, T. (2023) Determination of caffeine content of Nensebo coffee beans Southern Ethiopia, using ultra violet-visible (UV/V) is and high performance liquid chromatography (HPLC) methods in Ethiopia. African Journal of Pure and Applied Chemistry, 17:21-31. DOI doi.org/10.5897/AJPAC2021.0868.

Afonso, S., Matos, A.C. de, Marengo, V.A., Moreira, E.G., Soares, D.X., Koolen, H.H.F., Scarminio, I.S. (2015) Seasonal Effects on HPLC-DAD-UV and UPLC-ESI-MS Fingerprints and Analgesic Activities of Vernonia Condensata Baker Extracts. Journal of the Brazilian Chemical Society, 26:350-358. DOI doi.org/10.5935/0103-5053.20140286.

Alam, M.N., Bristi, N.J., Rafiquzzaman, M. (2013) Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal, 21:143-152. DOI doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002.

Alcázar Magaña, A., Kamimura, N., Soumyanath, A., Stevens, J.F., Maier, C.S. (2021) Caffeoylquinic acids: chemistry, biosynthesis, occurrence, analytical challenges, and bioactivity. The Plant Journal, 107:1299-1319. DOI doi.org/10.1111/tpj.15390.

Aleixandre-Tudo, J.L., du Toit, W. (2018) The Role of UV-Visible Spectroscopy for Phenolic Compounds Quantification in Winemaking. In: Solís-Oviedo, R.L., de la Cruz Pech-Canul, Á. (ed.) Frontiers and New Trends in the Science of Fermented

Food and Beverages. Rijeka: IntechOpen, p.1-22. DOI doi.org/10.5772/intechopen.79550.

Almeida, A.A.P., Oliveira, L.S., Moraes-Santos, T., Glória, M.B.A. (2003) Café e saúde: três décadas de estudos. Revista Brasileira de Armazenamento, edição especial Café, 7:56-63.

Almeida, R.F. de (2017) Estudo químico e farmacológico de folhas da espécie de café *Coffea arabica*: isolamento de compostos bioativos e avaliação do potencial antioxidante, de inibição da enzima de conversão da angiotensina e de atividade anticolinesterásica. Doutorado em Química - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 137p.

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L. de M., Sparovek, G. (2013) Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, 22:711-728. DOI doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507.

Alves, R.P., Antoniosi Filho, N.R., Lião, L.M., Flores, I.S. (2021) Evaluation of the Metabolic Profile of Arabica Coffee via NMR in Relation to the Time and Temperature of the Roasting Procedure. Journal of the Brazilian Chemical Society, 32:123-136. DOI doi.org/10.21577/0103-5053.20200162.

Amaral, J.A.T. do, Rena, A.B., Amaral, J.F.T. do (2006) Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro e sua relação com fotoperíodo, frutificação, resistência estomática e fotossíntese. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41:377-384. DOI doi.org/10.1590/S0100-204X2006000300002.

Amorim, A.F.V. de (2019) Métodos cromatográficos. 1. ed. Fortaleza: EdUECE, 84p.

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. (2002) Methods for testing antioxidant activity. Analyst, 127:183-198. DOI doi.org/10.1039/b009171p.

Azambuja, M.R. (2023) Potencial gastronômico de coprodutos de arroz (*Oryza sativa* L.). Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS, 59f.

Babova, O., Occhipinti, A., Maffei, M.E. (2016) Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. Phytochemistry, 123:33-39. DOI doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.016.

Bacha, C.J.C. (1998) A cafeicultura brasileira nas décadas de 80 e 90 e suas perspectivas. Preços Agrícolas: mercado e negócios agropecuários, 12:14-22.

Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R. (2015) Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. RSC Advances, 5:27540-27557. DOI doi.org/10.1039/C5RA01911G.

Bayala, B., Dianda, M., Montes, C.S. (2019) Seasonal Variation in Chemical Composition and Nutrient Content of the Inner Bark of *Balanites aegyptiaca* (Desert Date) Across Three Sahelian Countries (Burkina Faso, Mali and Niger). Food Science & Nutrition, 7:275-286.

Belan, L.L., Silva, K.G. da, Tomaz, M.A., Jesus Junior, W.C., Amaral, J.A.T. do, Amaral, J.F.T. do (2011) Aspectos fisiológicos do cafeeiro Conilon: uma abordagem sistemática. Nucleus, 8:225-240. DOI doi.org/10.3738/1982.2278.551.

Belay, A., Ture, K., Redi, M., Asfaw, A. (2008) Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. Food Chemistry, 108:310-315. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.024.

Benkhaira, N., Koraichi, S.I., Fikri-Benbrahim, K. (2022) In vitro Methods to Study Antioxidant and Some Biological Activities of Essential Oils: a Review. Biointerface Research in Applied Chemistry, 12:3332-3347. DOI doi.org/10.33263/BRIAC123.33323347.

Bertrand, B., Boulanger, R., Dussert, S., Ribeyre, F., Berthiot, L., Descroix, F., Joët, T. (2012) Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. Food Chemistry, 135:2575-2583. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.060.

Bhandari, M. R., Kawabata, J. (2004) Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal. Food Chemistry, 88:163-168. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.027.

Braga, G.L., Collins, C.H. (coord.) (1988) Introdução a métodos cromatográficos. 3. ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 298p.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28:25-30. DOI doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

Brasil (2024) Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Política Agrícola. Sumário Executivo do Café: novembro de 2024. Brasília: Ministério da Agricultura e Pecuária. Disponível em: http://www.consorciopesquisacafe.com.br/images/stories/noticias/2021/2024/Novembro/Sumario_Cafe_novembro_2024.pdf. Acesso em: 13 de dezembro de 2024.

Brige, F.A.A., Celestino, S.M.C., Amabile, R.F., Fagioli, M., Delvico, F.M. dos S., Montalvão, A.P.L., Sala, P.I.A.L. (2019) Genetic variability in conilon coffee related to grain attributes in an irrigated crop in the Cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 54. DOI doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00358.

Bottignon, M.R. (2009) Estimativas de parâmetros genéticos em *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br., quimiótipo linalol, em progênies clonais de meios irmãos. Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical, área de concentração em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia - Instituto Agronômico, Campinas - SP, 67p.

Bukhari, S.B., Memon, S., Mahroof-Tahir, M., Bhanger, M.I. (2009) Synthesis, characterization and antioxidant activity copper–quercetin complex. Spectrochimica

Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 71:1901-1906. DOI doi.org/10.1016/j.saa.2008.07.030.

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A.L., Ciric, A., Sokovic, M., Oliveira, M.B.P.P., Santos-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R. (2015) *Foeniculum vulgare* Mill. as natural conservation enhancer and health promoter by incorporation in cottage cheese. Journal of Functional Foods, 12:428-438. DOI doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.016.

Campa, C., Mondolot, L., Rakotondravao, A., Bidel, L.P.R., Gargadennec, A., Couturon, E., La Fisca, P., Rakotomalala, J.J., Jay-Allemand, C., Davis, A.P. (2012) A survey of mangiferin and hydroxycinnamic acid ester accumulation in coffee (Coffea) leaves: biological implications and uses. Annals of Botany, 110:595-613. DOI doi.org/10.1093/aob/mcs119.

Carrión García, C.J. (2020) Estudio de la interrelación entre potencial antioxidante de la dieta y biomarcadores de capacidad antioxidante, nutrientes antioxidantes e inflamación. Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos - Universidad de Granada, Granada - España, 320p.

Chen, X. (2019) A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 59:1008-1025. DOI doi.org/10.1080/10408398.2018.1546667.

Cheng, Z., Moore, J., Yu, L. (2006) High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54:7429-7436. DOI doi.org/10.1021/jf0611668.

Chiari, B.G., Trovatti, E., Pecoraro, É., Corrêa, M.A., Cicarelli, R.M.B., Ribeiro, S.J.L., Isaac, V.L.B. (2014) Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. Industrial Crops and Products, 52:389-393. DOI doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.011.

Ciaramelli, C., Palmioli, A., Airoldi, C. (2019) Coffee variety, origin and extraction procedure: Implications for coffee beneficial effects on human health. Food Chemistry, 278:47-55. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.063.

Cieśla, Ł., Kryszeń, J., Stochmal, A., Oleszek, W., Waksmundzka-Hajnos, M. (2012) Approach to develop a standardized TLC-DPPH• test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 70:126-135. DOI doi.org/10.1016/j.jpba.2012.06.007.

Collins, C.H. (2009) Michael Tswett e o “nascimento” da cromatografia. Scientia Chromatographica, 1:7-20.

Companhia Nacional de Abastecimento (2024) Produção de café de 2024 é estimada em 54,79 milhões de sacas, influenciada por clima. Brasília, 19 de setembro de 2024. Disponível em: https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5740-producao-de-cafe-de-2024-e-estimada-em-54-79-milhoes-de-sacas-influenciada-por-clima. Acesso em: 13 de dezembro de 2024.

Coşkun, Ö. (2016) Separation techniques: Chromatography. Northern Clinics of Istanbul, 3:156-160. DOI doi.org/10.14744/nci.2016.32757.

Cosme, P., Rodríguez, A.B., Espino, J., Garrido, M. (2020) Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. Antioxidants, 9:1263. DOI doi.org/10.3390/antiox9121263.

Coutinho, I.D., Kataoka, V.M.F., Honda, N.K., Coelho, R.G., Vieira, M.C., Cardoso, C.A.L. (2010) Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, 20:322-327. DOI doi.org/10.1590/S0102-695X2010000300006.

Davis, A.P., Dhadburn, H. (2017) *Coffea canephora*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2017.T18290186A18539466. DOI doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T18290186A18539466.en.

De Maria, C.A.B., Moreira, R.F.A. (2007) Cafeína: revisão sobre métodos de análise. Química Nova, 30:99-105. DOI doi.org/10.1590/S0100-40422007000100021.

Delaroza, F., Rakocevic, M., Malta, G.B., Bruns, R.E., Scarminio, I.S. (2014) Spectroscopic and Chromatographic Fingerprint Analysis of Composition Variations in *Coffea arabica* Leaves Subject to Different Light Conditions and Plant Phenophases. Journal of the Brazilian Chemical Society, 25:1929-1938. DOI doi.org/10.5935/0103-5053.20140172.

Deng, J., Cheng, W., Yang, G. (2011) A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. Food Chemistry, 125:1430-1435. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031.

Dewick, P. M. (2009) Medicinal natural products: A Biosynthetic Approach. 3 ed. Nottingham, UK: John Wiley & Sons, 546p.

Dias, R.C.E., Benassi, M. de T. (2010) Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: effects of roasting and of defects. Coffee Science, 5:87-96.

Dong, M.W. (2006) Modern HPLC for practicing scientists. Hoboken: Wiley-Interscience, 286p.

Drahos, L., Vékey, K. (2001) MassKinetics: a theoretical model of mass spectra incorporating physical processes, reaction kinetics and mathematical descriptions. Journal of Mass Spectrometry, 36:237-263. DOI doi.org/10.1002/jms.142.

Eldesouki, S., Qadri, R., Abu Helwa, R., Barqawi, H., Bustanji, Y., Abu-Gharbieh, E., El-Huneidi, W. (2022) Recent Updates on the Functional Impact of Kahweol and Cafestol on Cancer. Molecules, 27:7332. DOI doi.org/10.3390/molecules27217332.

El-Seedi, H.R., El-Said, A.M.A., Khalifa, S.A.M., Göransson, U., Bohlin, L., Borg-Karlson, A.K., Verpoorte, R. (2012) Biosynthesis, natural sources, dietary intake,

pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60:10877-10895. DOI doi.org/10.1021/jf301807g.

Esquivel, P., Viñas, M., Steingass, C.B., Gruschwitz, M., Guevara, E., Carle, R., Schweiggert, R.M., Jiménez, V.M. (2020) Coffee (*Coffea arabica* L.) by-Products as a Source of Carotenoids and Phenolic Compounds—Evaluation of Varieties With Different Peel Color. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4:590597. DOI doi.org/10.3389/fsufs.2020.590597.

Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C.M., Lafay, S. (2008) Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. The Journal of Nutrition, 138:2309-2315. DOI doi.org/10.3945/jn.108.095554.

Farah, A., Donangelo, C.M. (2006) Phenolic compounds in coffee. Brazilian Journal of Plant Physiology, 18:23-36. DOI doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003.

Farah, A. (2012) Coffee Constituents. In: Chu, Y.-F. (ed.) Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention. Hoboken: Wiley-Blackwell, p.21-58. DOI doi.org/10.1002/9781119949893.ch2.

Florez-Sarasa, I., Segovia, V., Del-Saz, N.F., Escobar, M.A., Ribas-Carbo, M. (2016) Seasonal fluctuation of fatty acid unsaturation level in olive tree (*Olea europaea*) leaves. Journal of Plant Physiology, 198:48-55.

Fonseca, A.S. da, Freire, T.C., Bastos, J.S.F., Sangi, S.C., Ogrodowczyk, L., Rocha, R.B., Espindula, M.C., Vieira Junior, J.R., Fernandes, C. de F. (2022) Characterization of the biochemical response of *Coffea canephora* accessions regarding resistance to orange rust. Research, Society and Development, 11. DOI doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30171.

Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2000) The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal of the Science

of Food and Agriculture, 80:1925-1941. DOI doi.org/10.1002/1097-0010(200010)80:13<1925::aid-jsfa714>3.0.co;2-4.

Fredholm, B.B. (1995) Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine. Pharmacology & Toxicology, 76:93-101. DOI doi.org/10.1111/j.1600-0773.1995.tb00111.x.

Gesto, D.S., Simões, C. (2016) *Coffea arabica* and *Coffea canephora*: differences in phenolic composition, antioxidant capacity and drought tolerance. In: Preedy, V.R. (ed.) Coffee in Health and Disease Prevention. London: Academic Press, p.361-368.

Girsang, E., Ginting, C.N., Lister, I.N.E., Gunawan, K.Y., Widowati, W. (2021) Anti-inflammatory and antiaging properties of chlorogenic acid on UV-induced fibroblast cell. PeerJ, 9. DOI doi.org/10.7717/peerj.11419.

Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P. (2007) Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química Nova, 30:374-381. DOI doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026.

Godos, J., Pluchinotta, F.R., Marventano, S., Buscemi, S., Li Volti, G., Galvano, F., Grosso, G. (2014) Coffee components and cardiovascular risk: beneficial and detrimental effects. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 65:925-936. DOI doi.org/10.3109/09637486.2014.940287.

Guerra, A.F., Santos, J. de F., Ferreira, L.T., Rocha, O.C. (2021) Cafés do Brasil: pesquisa, sustentabilidade e inovação. In: Telhado, S.F.P. e, Capdeville, G. de (ed.) Tecnologias poupa-terra 2021. Brasília, DF: Embrapa, p.63-75.

Góes, B.D. (2014) Estrutura genética de populações de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) ao longo da bacia do rio Laranjinha. Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes - PR, 58f.

Guo, N., Yu, Y., Ablajan, K., Li, L., Fan, B., Peng, J., Yan, H., Ma, F., Nie, Y. (2011) Seasonal variations in metabolite profiling of the fruits of *Ligustrum lucidum* Ait. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 25:1701-1714. DOI doi.org/10.1002/rcm.5036.

Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Ritchard, N.T., Hartzfeld, P.W., Riechel, T.L. (1998) High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46:1887-1892. DOI doi.org/10.1021/jf970975b.

Höllein, L., Holzgrabe, U. (2018) Pharmazeutische Qualitätsanalytik in Entwicklungs- und Schwellenländern: Vereinfachte HPLC-Analytik als Schnittstelle zwischen Minilab und den Arzneibüchern? Pharmakon, 6:379-386.

Huang, X., Li, Z., Tahir, H.E., Zou, X., Shi, J., Xu, Y., Zhai, X. (2021) Conventional and rapid methods for measurement of total bioactive components and antioxidant activity in *Hibiscus sabdariffa*. In: Mariod, A.A., Tahir, H.E., Mahunu, G.K. (ed.) Roselle (*Hibiscus sabdariffa*): Chemistry, Production, Products, and Utilization. London: Academic Press, p.199-214. DOI doi.org/10.1016/B978-0-12-822100-6.00011-2.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2023) Produção de café no Espírito Santo. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cafe/es. Acesso em: 13 de dezembro de 2024.

Juszczak, A.M., Zovko-Končić, M., Tomczyk, M. (2019) Recent Trends in the Application of Chromatographic Techniques in the Analysis of Luteolin and Its Derivatives. Biomolecules, 9:731. DOI doi.org/10.3390/biom9110731.

Kaushik, P., Andújar, I., Vilanova, S., Plazas, M., Gramazio, P., Herraiz, F.J., Brar, N.S., Prohens, J. (2015) Breeding Vegetables with Increased Content in Bioactive Phenolic Acids. Molecules, 20:18464-18481. DOI doi.org/10.3390/molecules201018464.

Kreis, W., Munkert, J., Pádua, R.M. de (2017) Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Mello, J.C.P. de, Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (org.) Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, p.147-166

Lemos, M.F., Perez, C., Cunha, P.H.P. da, Filgueiras, P.R., Pereira, L.L., Fonseca, A.F.A. da, Ifa, D.R., Scherer, R. (2020) Chemical and sensory profile of new genotypes of Brazilian *Coffea canephora*. Food Chemistry, 310:125850. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125850

Lima, D.R. (2003) Café & saúde humana. Brasília: Embrapa Café, 64p. (Embrapa Café. Documentos, 1).

Liu, M., Zhang, L., Ser, S.L., Cumming, J.R., Ku, K.-M. (2018) Comparative Phytonutrient Analysis of Broccoli By-Products: The Potentials for Broccoli By-Product Utilization. Molecules, 23:900. DOI doi.org/10.3390/molecules23040900.

Marques, V., Farah, A. (2009) Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. Food Chemistry, 113:1370-1376. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.086.

Martinez, H.E.P., Clemente, J.M., Lacerda, J.S. de, Neves, Y.P., Pedrosa, A.W. (2014) Nutrição mineral do cafeeiro e qualidade da bebida. Revista Ceres, 61:838-848. DOI doi.org/10.1590/0034-737X201461000009.

Martucci, M.E.P., De Vos, R.C.H., Carollo, C.A., Gobbo-Neto, L. (2014) Metabolomics as a Potential Chemotaxonomical Tool: Application in the Genus *Vernonia* Schreb. 9. DOI doi.org/10.1371/journal.pone.0093149.

Medeiros, F.D. de (2006) Determinação da variabilidade sazonal de marcadores químicos de plantas de interesse medicinal. Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, 94p.

Medina, M.B. (2011a) Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. Journal of Functional Foods, 3:79-87. DOI doi.org/10.1016/j.jff.2011.02.007.

Medina, M.B. (2011b) Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in beverages and grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59:1565-1571. DOI doi.org/10.1021/jf103711c.

Moharram, H.A., Youssef, M.M. (2014) Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. Alexandria Journal of Food Science and Technology, 11:31-42. DOI doi.org/10.12816/0025348.

Molaei, S., Tehrani, A.D., Shamlouei, H. (2023) Antioxidant activates of new carbohydrate based gallate derivatives: A DFT study. Journal of Molecular Liquids, 377:121506. DOI doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121506.

Molina-Díaz, A., Ortega-Carmona, I., Pascual-Reguera, M.I. (1998) Indirect spectrophotometric determination of ascorbic acid with ferrozine by flow-injection analysis. Talanta, 47:531-536. DOI doi.org/10.1016/S0039-9140(98)00085-X.

Morais, L.A.S. de (2009) Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Horticultura Brasileira, 27: S4050-S4063. Suplemento. Trabalho apresentado no 49º Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia - SP.

Mori, A.L.B., Kalschne, D.L., Ferrão, M.A.G., Fonseca, A.F.A. da, Ferrão, R.G., Benassi, M. de T. (2016) Diterpenes in *Coffea canephora*. Journal of Food Composition and Analysis, 52:52-57. DOI doi.org/10.1016/j.jfca.2016.08.004.

Mota, J.W.S., Da Matta, F.M., Barros, R.S., Maestri, M. (1997) Vegetative growth in *Coffea arabica* L. as affected by irrigation, daylength and fruiting. Tropical Ecology, 38:73-79.

Muflihah, Y.M., Gollavelli, G., Ling, Y.C. (2021) Correlation Study of Antioxidant Activity with Phenolic and Flavonoid Compounds in 12 Indonesian Indigenous Herbs. Antioxidants, 10:1530. DOI doi.org/10.3390/antiox10101530.

Munteanu, I.G., Apetrei, C. (2021) Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. International Journal of Molecular Sciences, 22:3380. DOI doi.org/10.3390/ijms22073380.

Nascimento, G.O. do (2022) Extratos das folhas de café e de seus principais compostos bioativos: avaliação do estresse oxidativo. Doutorado em Química - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 159p.

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A.A., Khan, G.J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., XiaoHui, Z. (2018) Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research. Biomedicine & Pharmacotherapy, 97:67-74. DOI doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064.

Neto, D.C., Uetanabaro, A.P.T., Oliveira, E. (2016) Influência do meio geográfico e os fatores ambientais na qualidade do café do Planalto de Vitória da Conquista. Anais do 42º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 42, Serra Negra - SP. Viçosa - MG: Biblioteca do Café, p.1-2.

Nicikava, A.C., Ferrarezi Junior, E. (2022) História e consumo do café no Brasil e no mundo. Revista Interface Tecnológica, 19:713-722. DOI doi.org/10.31510/infa.v19i2.1496.

Nogueira, L. dos S. (2023) Atividades antioxidante e anti-inflamatória in vitro de extratos de células-tronco vegetais obtidas a partir de calos de *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. Mestrado em Biotecnologia Vegetal - Universidade Vila Velha, Vila Velha - ES, 54p.

Novaes, F.J.M., Bayan, F.C., Aquino Neto, F.R., Rezende, C.M. (2019) The occurrence of cafestol and kahweol diterpenes in different coffee brews. Coffee Science, 14:265-280.

Nzekoue, F.K., Angeloni, S., Navarini, L., Angeloni, C., Freschi, M., Hrelia, S., Vitali, L.A., Sagratini, G., Vittori, S., Caprioli, G. (2020) Coffee silverskin extracts: Quantification of 30 bioactive compounds by a new HPLC-MS/MS method and evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. Food Research International, 133:109128. DOI doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109128.

Oliveira, L.N.L. de, Rocha, R.B., Ferreira, F.M., Spinelli, V.M., Ramalho, A.R., Teixeira, A.L. (2018) Selection of *Coffea canephora* parents from the botanical varieties Conilon and Robusta for the production of intervarietal hybrids. Ciência Rural, 48. DOI doi.org/10.1590/0103-8478cr20170444.

Organização Internacional do Café (2024) Relatório sobre o Mercado de Café: setembro de 2024. Londres: Organização Internacional do Café, 13p. Disponível em: https://ico.org/documents/cy2024-25/cmr-0924-p.pdf. Acesso em: 21 de novembro de 2024.

Pacheco, S., Borguini, R.G., Santiago, M.C.P. de A., Nascimento, L. da S. de M. do, Godoy, R.L. de O. (2015) História da cromatografia líquida. Revista Virtual de Química, 7:1225-1271. DOI doi.org/10.5935/1984-6835.20150069.

Pagliari, S., Celano, R., Rastrelli, L., Sacco, E., Arlati, F., Labra, M., Campone, L. (2022) Extraction of methylxanthines by pressurized hot water extraction from cocoa shell by-product as natural source of functional ingredient. LWT - Food Science and Technology, 170:114115. DOI doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114115.

Paiva, T.L., Santos, G.F., Coutinho, J.O.B., Mendonça, M.M.M., Dutra, D.S., Leite, J.A. de M., Rigueira, J.M.L., Mazzieiro, G.P., Ferreira, L.C.C., Araújo, B.C. de (2022) A ingestão de cafeína como fator protetor no desenvolvimento e na progressão da Doença de Parkinson e na Doença de Alzheimer: uma revisão integrativa. Research, Society and Development, 11. DOI doi.org/10.33448/rsd-v11i8.31424.

Patay, É.B., Bencsik, T., Papp, N. (2016) Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 9:1127-1135. DOI doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.11.008.

Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Engel, R.G. (2009) Química orgânica experimental: técnicas de escala pequena. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 880p.

Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. (2018) Fruit peels as sources of non-extractable polyphenols or macromolecular antioxidants: analysis and nutritional implications. Food Research International, 111:148-152. DOI doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.023

Pinheiro, F. de A., Elias, L.F., Jesus Filho, M. de, Modolo, M.U., Rocha, J. de C.G., Lemos, M.F., Scherer, R., Cardoso, W.S. (2021) Arabica and Conilon coffee flowers: bioactive compounds and antioxidant capacity under different processes. Food Chemistry, 336:127701. DOI doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127701.

Plano Estadual de Desenvolvimento Sustentável da Cafeicultura Fluminense (2018) Plano Estadual de Desenvolvimento Sustentável da Cafeicultura Fluminense. Disponível em: https://www.pesagro.rj.gov.br/wp-content/uploads/2020/05/PEDSCF-Revisado-Abril-2018.pdf. Acesso em: 19 de novembro de 2024.

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:4290-4302. DOI doi.org/10.1021/jf0502698.

Ravindranath, V., Singh, J., Jayaprakasha, G.K., Patil, B.S. (2021) Optimization of Extraction Solvent and Fast Blue BB Assay for Comparative Analysis of Antioxidant Phenolics from *Cucumis melo* L. Plants, 10:1379. DOI doi.org/10.3390/plants10071379.

Ribeiro, E. (2019) Potencial bioativo da fração proteica de grãos verdes e torrados e da borra de café (*Coffea arabica* var. IAPAR 59). Mestrado em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, 95p.

Ribeiro, S.M., Bonilla, O.H., Lucena, E.M.P. (2018) Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton spp.* da Caatinga. Iheringia, Série Botânica, 73:31-38. Disponível em: https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/371. Acesso em: 10 de janeiro de 2024.

Ribeiro, N.M., Nunes, C.R. (2008) Análise de pigmentos de pimentões por cromatografia em papel. Química Nova na Escola, n. 29:34-37.

Rodrigues, N.P., Salva, T. de J.G., Bragagnolo, N. (2015) Influence of coffee genotype on bioactive compounds and the in vitro capacity to scavenge reactive oxygen and nitrogen species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63:4815-4826. DOI doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00530.

Romero, N.G. (2017) Extração de compostos fenólicos a partir de café e sua caracterização química e funcional. Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar - Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa – Portugal, 129p.

Roque de Jesus, J.G., Andrade de Carvalho de Souza, C.K., Sierpe Jeraldo, V. de L. (2022) Utilização de cromatografia líquida de alta eficiência para o diagnóstico laboratorial. Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - Sergipe, 7:11-19. Disponível em: https://periodicos.grupotiradentes.com.br/cadernobiologicas/article/view/10369.

Safe, S., Kothari, J., Hailemariam, A., Upadhyay, S., Davidson, L.A., Chapkin, R.S. (2023) Health Benefits of Coffee Consumption for Cancer and Other Diseases and Mechanisms of Action. International Journal of Molecular Sciences, 24:2706. DOI doi.org/10.3390/ijms24032706.

Sanches, M.Z., Silva Neto, E. de S., Ueno, C.T., Shirai, M.A., Sakanaka, L.S. (2020) Roasted coffee oil (*Coffea arabica*): Characterization of fatty acids, qualification of aromatic compounds and quantification of caffeine content. Research, Society and Development, 9. DOI doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10618.

Santos, H.B. dos (2016) Influência da sazonalidade nos perfis quali e quantitativo de polifenois das cascas e folhas de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz (Jucá). Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 86p.

Santos, S.N., Castanha, R.F., Haber, L.L., Marques, M.O.M., Scramin, S., Melo, I.S. de (2011) Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 5p. (Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico, 50).

Segheto, L. (2017) Avaliação das atividades antioxidante e anti-inflamatória tópica das folhas de café (*Coffea arabica* L.). Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG, 64p.

Šeremet, D., Fabečić, P., Vojvodić Cebin, A., Mandura Jarić, A., Pudić, R., Komes, D. (2022) Antioxidant and Sensory Assessment of Innovative Coffee Blends of Reduced Caffeine Content. Molecules, 27:448. DOI doi.org/10.3390/molecules27020448.

Silva, E.P. da, Herminio, V.L. de Q., Motta, D.N., Soares, M.B.P., Rodrigues, L. de A.P., Viana, J.D., Freitas, F.A. de, Silva, A.P.G. da, Souza, F. das C. do A., Vilas Boas, E.V. de B. (2022) The role of phenolic compounds in metabolism and their antioxidant potential. Research, Society and Development, 11. DOI doi.org/10.33448/rsd-v11i10.31750.

Silva, M.R. da (2021) Caracterização metabólica de quinze subprodutos da cadeia produtiva do café: das fazendas aos processos industriais. Mestrado em Biotecnologia - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu – SP, 82p.

Simões, V. do N., Favarin, L.R.V., Cabeza, N.A., Oliveira, T.D. de, Fiorucci, A.R., Stropa, J.M., Rodrigues, D.C.M., Cavalheiro, A.A., Anjos, A. dos (2013) Síntese, caracterização e estudo das propriedades de um novo complexo mononuclear contendo quercetina e íon Ga(III). Química Nova, 36:495-501. DOI doi.org/10.1590/S0100-40422013000400002.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R. (2014) Fundamentals of Analytical Chemistry. 9. ed. Belmont: Brooks/Cole, Cengage Learning, 958p.

Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977) Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28:49-55. DOI doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49.

Small, E. (2009) Top 100 food plants: the world's most important culinary crops. Ottawa: NRC Research Press, 636p.

Sousa, C.M. de M., Silva, H.R. e, Vieira-Jr., G.M., Ayres, M.C.C., Costa, C.L.S. da, Araújo, D.S., Cavalcante, L.C.D., Barros, E.D.S., Araújo, P.B. de M., Brandão, M.S., Chaves, M.H. (2007) Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Química Nova, 30:351-355. DOI doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021.

Sousa, P.G.F. de (2023) Estudos de diversidade genética e resposta bioquímica ao estresse hídrico em plantas e em sementes de clones de *Coffea canephora*. Doutorado em Produção Vegetal - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes - RJ, 92p.

Souza, A.V.V. de, Britto, D. de, Santos, U.S. dos, Bispo, L. dos P., Turatti, I.C.C., Lopes, N.P., Oliveira, A.P. de, Almeida, J.R.G. da S. (2017) Influence of season, drying temperature and extraction time on the yield and chemical composition of ‘marmeleiro’ (*Croton sonderianus*) essential oil. Journal of Essential Oil Research, 29:76-84. DOI doi.org/10.1080/10412905.2016.1178183.

Souza, A.V. de, Vieira, M.R. da S., Putti, F.F. (2018) Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. Brazilian Journal of Food Technology, 21. DOI doi.org/10.1590/1981-6723.10317.

Souza, A.J. de J., Matsumoto, S.N., Malta, M.R., Guimarães, R.J. (2013) Qualidade do café arborizado e a pleno sol, em manejo pós-colheita no sudoeste da Bahia. Coffee Science, 8:109-120.

Swartz, M.E. (2015) New Chromatography Columns and Accessories for 2015. LCGC North America, 33:234-247.

Taniguchi, M., LaRocca, C.A., Bernat, J.D., Lindsey, J.S. (2023) Digital Database of Absorption Spectra of Diverse Flavonoids Enables Structural Comparisons and Quantitative Evaluations. Journal of Natural Products, 86:1087-1119. DOI doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00720.

Torres, M.A.M.G. (2015) Identificação e caracterização do potencial alelopático do bambu *Apoclada simplex* McClure & Smith. Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo - SP.

Upadhyay, R., Rao, L.J.M. (2013) An Outlook on Chlorogenic Acids—Occurrence, Chemistry, Technology, and Biological Activities. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53:968-984. DOI doi.org/10.1080/10408398.2011.576319.

Urrea-Victoria, V., Pires, J., Torres, P.B., Santos, D.Y.A.C. dos, Chow, F. (2016) Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 6p. DOI doi.org/10.13140/RG.2.2.24094.64322.

Vázquez, R., Rosana, A. R., Sarni-Manchado, P., & Bladé, C. (2016) Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46:101-123. DOI doi.org/10.1080/10408390500400009.

Vieira, M.C., Pagel, G. de O., Silva, E.B. da, Bobrowski, V.L., Rocha, B.H.G. (2024) Polyploidy: Perspectives and practical applications for genetic improvement. In: Agricultural and Biological Sciences: Foundations and Applications. São José dos Pinhais: Seven Editora, p.456-470. DOI doi.org/10.56238/sevened2024.023-033.

Wang, R., Cheng, H., Yang, Y., Ou, J., Song, Q., Zhou, H., Peng, H., Wang, J., Fang, C.W. (2022) Ultra high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry combined with chemometric analysis as an approach for the quality evaluation of Mume Fructus. Journal of Separation Science, 45:1884-1893. DOI doi.org/10.1002/jssc.202101002.

Wu, H., Lu, P., Liu, Z., Sharifi-Rad, J., Suleria, H.A.R. (2022) Impact of roasting on the phenolic and volatile compounds in coffee beans. Food Science & Nutrition, 10:2408-2425. DOI doi.org/10.1002/fsn3.2849.

Yan, Y., Zhou, X., Guo, K., Zhou, F., Yang, H. (2020) Use of Chlorogenic Acid against Diabetes Mellitus and Its Complications. Journal of Immunology Research, 2020:9680508. DOI doi.org/10.1155/2020/9680508.

Zanoni, M.V.B., Yamanaka, H. (org.) (2016) Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento. 1. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 184p.

Zuhair, R.A., Aminah, A., Sahilah, A.M., Eqbal, D. (2013) Antioxidant activity and physicochemical properties changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Hongkong) during different ripening stage. International Food Research Journal, 20:1653-1659.

APÊNDICES

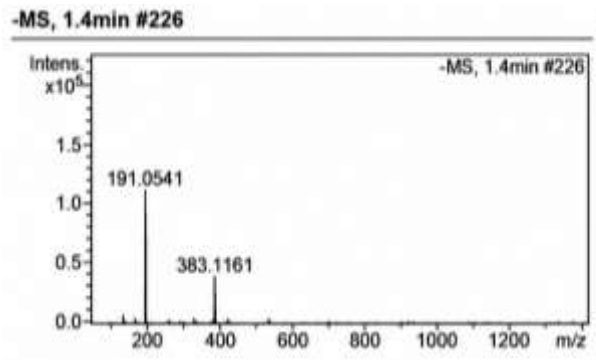
APÊNDICE A: Tempos de retenção (TR) e respectivas absorções UV dos principais picos cromatográficos obtidos na análise das amostras de *Coffea canephora* por (CLAE-DAD) durante a estação do verão.

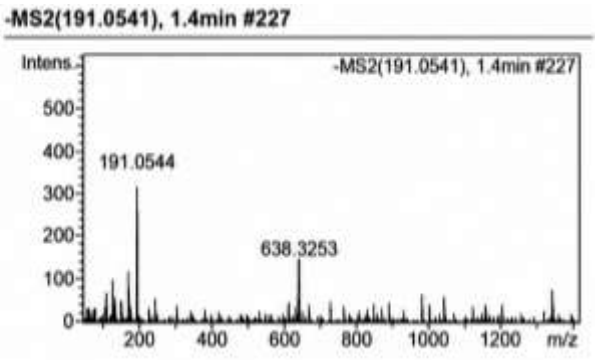
Amostras Genótipos (verão)	**Picos (TR=min) e respectivas absorções UV**
AT (8)	10.747: 243 e 272nm 12.492: 237, 258 e 292 nm 15.788: 245 e 272 nm 17.183: 264 e 325 nm
L80 (14)	15. 206: 263 e 324 nm 15.765: 200, 245 e 272 nm 17.129: 205, 264 e 325 nm 18.561: 263 e 325 nm 22.765: 288, 327 e 329 nm
Bamburral (15)	10.879: 205, 243 e 272 nm 15.100: 200, 245 e 272 nm
Peneirão (17)	10. 737: 201, 243 e 272 nm 15.254: 263 e 324 nm 15.786: 205, 245 e 272 nm 17.181: 263 e 325 nm 18.614: 264 e 325 nm 22.796: 288, 325 e 350 nm
Z21 (25)	15.092: 200, 245 e 272 nm 16.712: 264 e 325 nm 18.183: 264 e 325 nm
A1 (30)	15.350: 203, 244 e 272 nm 15.562: 203, 244 e 272 nm
LB1 (36)	15.442: 202, 245 e 272 nm 17.202: 263 e 325 nm 20.720: 240, 255 e 354 nm

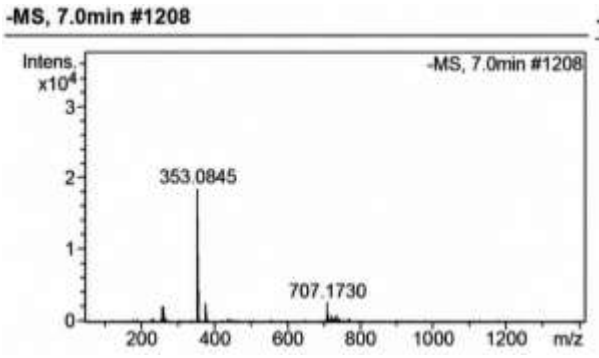
APÊNDICE B: Tempos de retenção (TR) e respectivas absorções UV dos principais picos cromatográficos obtidos na análise das amostras de *Coffea canephora* por (CLAE-DAD) durante a estação do inverno.

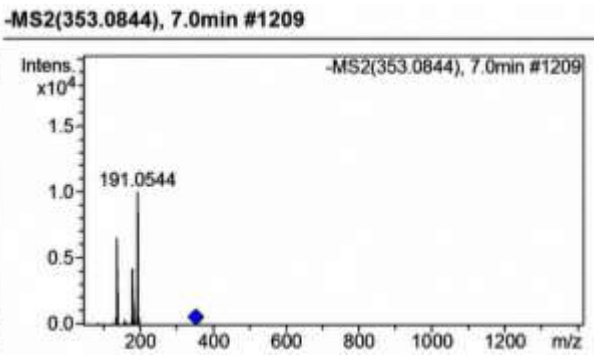
Amostras Genótipos (Inverno)	**Picos (TR=min) e respectivas absorções UV**
AT (8)	15.783: 245 e 272 nm
L80 (14)	15.763: 245 e 272 nm
Bamburral (15)	15.660: 204, 244 e 272 nm
Peneirão (17)	15.408: 204, 244 e 272 nm
Z21 (25)	15.565: 203, 244 e 272 nm
A1 (30)	15.293: 205, 244 e 272 nm
LB1 (36)	15.468: 203, 245 e 272 nm

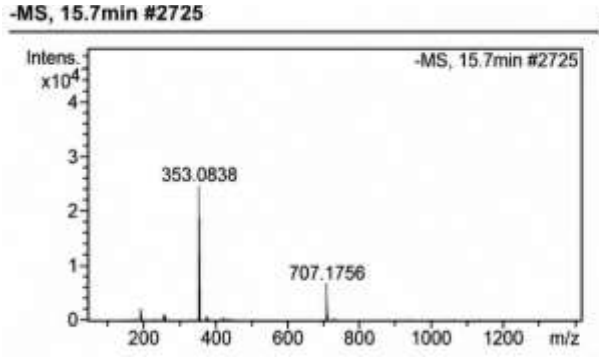
APÊNDICE C: Espectros de massas de todos os picos identificados na amostra Peneirão (17)

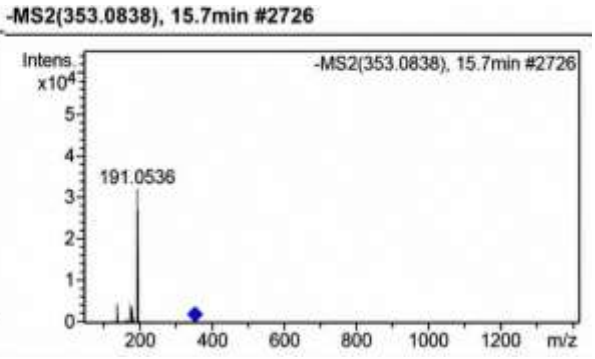


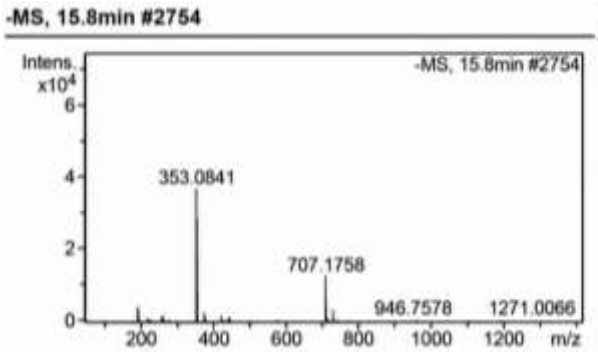


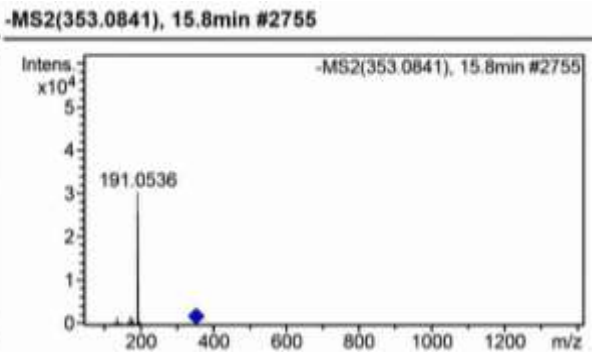




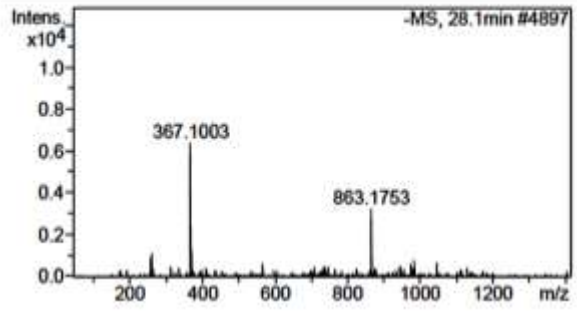




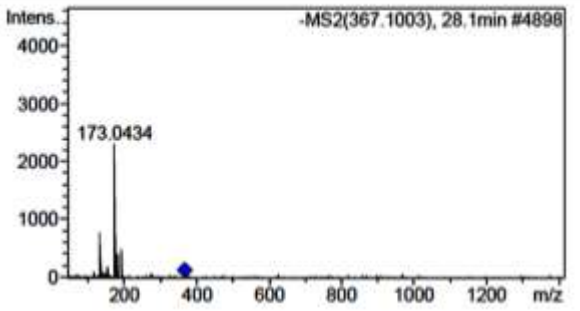




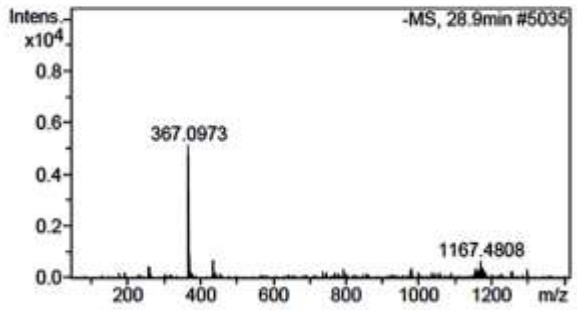
-MS, 28.1min #4897



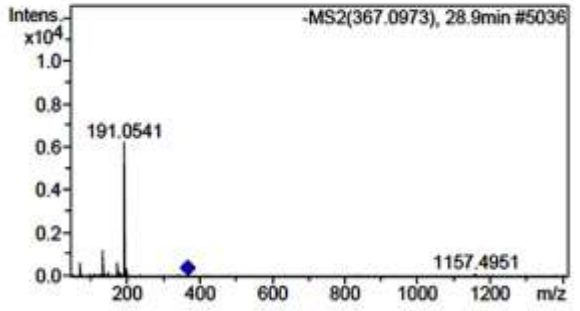
-MS2(367.1003), 28.1min #4898



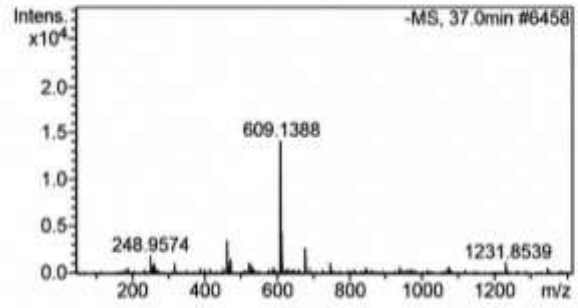
-MS, 28.9min #5035



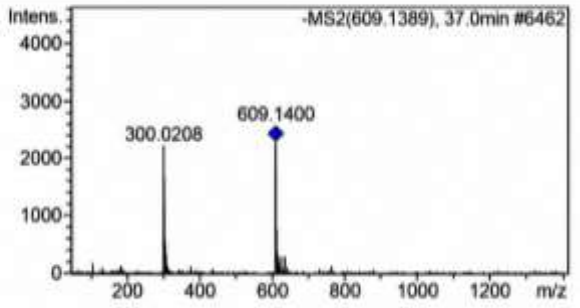
-MS2(367.0973), 28.9min #5036



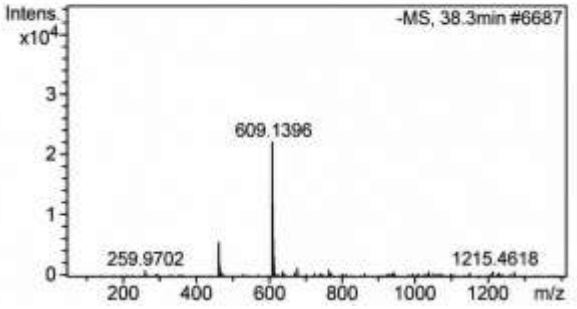
-MS, 37.0min #6458



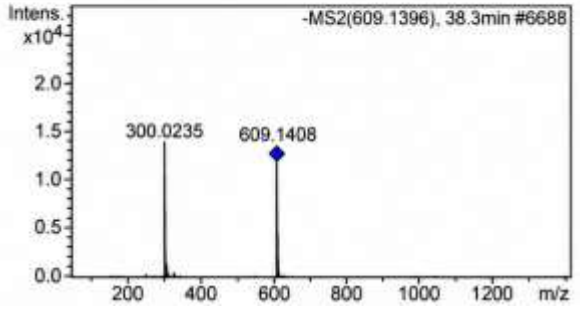
-MS2(609.1389), 37.0min #6462



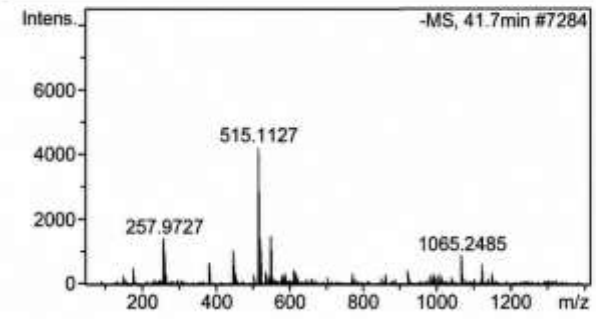
-MS, 38.3min #6687



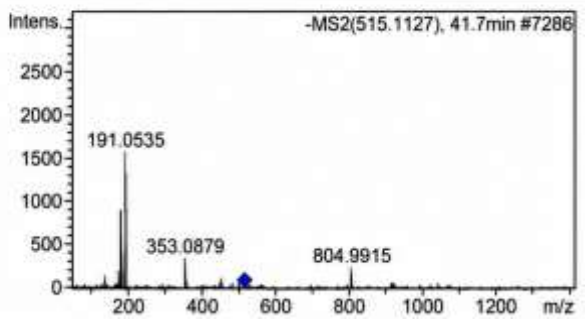
-MS2(609.1396), 38.3min #6688



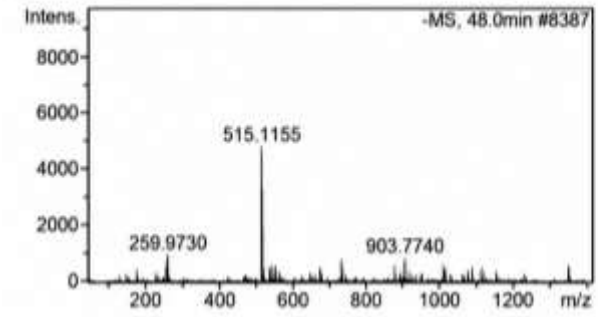
-MS, 41.7min #7284



-MS2(515.1127), 41.7min #7286



-MS, 48.0min #8387



-MS2(515.1155), 48.0min #8388

