



**INSTITUTO
FEDERAL**
Brasília

Instituto Federal de Brasília
Campus Gama
Licenciatura em Química

BRUNO ALVES CÂNDIDO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE
EXTRAÇÃO A FRIO DO CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica*)**

Brasília
2023

BRUNO ALVES CÂNDIDO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO
A FRIO DO CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica*)**

Trabalho de conclusão de curso de Licenciatura em Química do *Campus* Gama do Instituto Federal de Brasília como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Química.

Orientadora: Prof. Dra. Débora Kono T. Moreira

Brasília
2023

CIP — Catalogação na Publicação

C217a Cândido, Bruno Alves
Avaliação do efeito da temperatura e do tempo de extração a frio do café arábica (*coffea arabica*) / Bruno Alves Cândido ; orientação Profa. Dra. Débora Kono Taketa Moreira. — Brasília, 2023.

58 f.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Kono Taketa Moreira.
Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação — Licenciatura em Química) —
Instituto Federal de Brasília, Campus Gama, 2023.

1. Extração à frio. 2. Compostos bioativos. 3. Antioxidante. I. Moreira, Débora Kono taketa , orient. II. Título.

544



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília

CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM QUÍMICA
RELATÓRIO DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

1. DADOS DO(A) ALUNO(A)

Nome: BRUNO ALVES CÂNDIDO

2 - DADOS DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Tipo do trabalho: (x) **Monografia** () **Artigo**

Título:

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DO TEMPO DE EXTRAÇÃO A FRIO DO CAFÉ ARÁBICA (*Coffea arabica*)

3 - BANCA EXAMINADORA

Orientador: Dra Débora Kono Taketa Moreira

Convidado(a) 1: Dr Marley Garcia Silva

Convidado(a) 2: Dra Patrícia Diniz Andrade

4 - RESULTADOS

Após avaliação do TCC, nesta data, os membros da Banca Examinadora consideram o(a) aluno(a):

(x) APROVADO

() APROVADO com reformulações (prazo de 15 dias, após a defesa do TCC, para entrega da versão definitiva)

() REPROVADO (deverá haver nova matrícula no componente TCC e remarcação da defesa para o próximo semestre letivo).

5 - NOTA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO:

Brasília, 06 de janeiro de 2023.

Banca Examinadora: composta pelos membros indicados no item 3 deste relatório que assinam eletronicamente este documento.



Documento assinado digitalmente

PATRICIA DINIZ ANDRADE

Data: 06/01/2023 16:33:55-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Documento assinado eletronicamente por:

- **Debora Kono Taketa Moreira, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 06/01/2023 16:24:51.
- **Marley Garcia Silva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 06/01/2023 16:22:30.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 03/01/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifb.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 432770

Código de Autenticação: 931d1297d2





Campus Gama
Lote 01, DF 480, None, Setor de
Múltiplas Atividades, GAMA / DF, CEP
72.429-005

Dedico a minha família, em especial à minha esposa, Wllene e meu falecido filho, Nikolai.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha esposa, Wllene Cândido por estar comigo antes e durante toda essa trajetória acadêmica até o momento. Conto com você para seguir em frente.

Agradeço aos meus ancestrais e minha família por trilharem caminhos árduos para que me possibilitasse chegar até aqui, em especial aos meus pais Núbia Alves e Márcio Cândido.

Também agradeço aos colegas que se tornaram familiares durante minha jornada, em especial ao Pe. Flávio Luiz por ter me resgatado e Daniel Soares por ter sido meu amigo.

Agradeço a minha orientadora Débora Moreira, por ter me transmitido o máximo de conhecimento que foi possível e por ter sido um suporte ao longo desses anos juntos.

Agradeço aos técnicos dos laboratórios de química e alimentos, em especial ao Ronaldo Fernandes e Mirtza Maggioli, essa que foi uma amiga que adquiri no percurso.

Um agradecimento especial a todos meus professores, por terem possibilitado o meu avanço na área científica. Em especial aos professores Elvis Boes, Rodrigo Alves, Nizamara Simenremis, Breno Cunha e Adriana Drummond.

Agradecimento especial aos servidores do IFB que contribuíram nesses quatros anos que estive nessa instituição, em especial aos membros da CDAE

Por fim, um agradecimento a banca por dedicar seu tempo e atenção para a correção e melhoriatanto do trabalho quanto pessoal.

Estou destinado a ir de mãos dadas nesta viagem com meus estranhos heróis e a examinar a imensidão crescente da vida, a examiná-la através do riso que vejo e através das lágrimas que não vejo e ninguém conhece.

— **Nikolai Gogol.**

RESUMO

O café é uma importante bebida e está presente na dieta da população e atualmente, tem-se observado a ascensão dos *coffee shops*, neste contexto, o *cold brew* (café gelado), tem recebido maior atenção da população. Todavia, os estudos relacionados ao café gelado são escassos, especialmente em comparações entre diferentes métodos de obtenção do café. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o tempo e a temperatura de extração do *cold brew* do café arábica. Para isso, foram realizados ensaios de cinética de extração em duas diferentes temperaturas frias (4 °C e 25 °C) ao longo de diferentes tempos (15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 720 e 1440 minutos), além de uma extração a quente como controle de avaliação. Foi quantificado o teor de sólidos dissolvidos totais, pH, acidez, fenólicos totais, flavonoides totais, cafeína, açúcares e capacidade antioxidante. O comportamento dos ensaios de extração tanto em temperatura ambiente quanto em temperatura de refrigeração foi similar ao longo do tempo e os resultados das análises de pH, acidez e TDS foram similares ao decorrer de 1440 minutos (24 horas), apresentando diferença no teor de cafeína, açúcares, flavonoides e fenólicos totais. Assim, a obtenção de um *cold brew* extraído entre 12 horas e 24 horas, seja em geladeira ou temperatura ambiente, apresentou características similares. A extração controle indicou que muitas das propriedades do *cold brew* são distintas daquelas extraídas em temperatura elevada. A partir das análises realizadas nessa bebida, foram simplificadas para a elaboração de roteiros experimentais para o ensino de Química nas disciplinas dos últimos anos da educação básica.

Palavras chaves: extração à frio, compostos bioativos, antioxidante.

ABSTRACT

Coffee is an important drink and is present in the diet of the population and currently, the rise of coffee shops has been observed, in this context, cold brew (iced coffee), has received greater attention from the population. However, studies related to iced coffee are scarce, especially in comparisons between different methods of obtaining coffee. Thus, the present work aimed to evaluate the extraction time and temperature of cold brew arabica coffee. For this, extraction kinetics tests were carried out at two different cold temperatures (4 °C and 25 °C) over different times (15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 720 and 1440 minutes), plus a hot extraction as an evaluation control. Total dissolved solids, pH, acidity, total phenolics, total flavonoids, caffeine, sugars and antioxidant capacity were quantified. The behavior of the extraction tests both at room temperature and at refrigeration temperature was similar over time and the results of the pH, acidity and TDS analyzes were similar over 1440 minutes (24 hours), showing a difference in the caffeine content, sugars, flavonoids and total phenolics. Thus, obtaining a cold brew extracted between 12 and 24 hours, whether in a refrigerator or at room temperature, presented similar characteristics. The control extraction indicated that many of the properties of cold brew are different from those extracted at elevated temperature. Based on the analyzes carried out on this drink, they were simplified for the elaboration of experimental scripts for the teaching of Chemistry in the disciplines of the last years of basic education.

Key words: cold extraction, bioactive compounds, antioxidant.

LISTAS DE FIGURAS

FIGURA 1 – VALORES DE TDS AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	30
FIGURA 2 – VARIAÇÃO DO pH AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	31
FIGURA 3 – VARIAÇÃO DA ACIDEZ AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	31
FIGURA 4 – VARIAÇÃO DO TEOR DE CAFEÍNA AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	33
FIGURA 5 – VARIAÇÃO DO TEOR DE AÇÚCARES TOTAIS DURANTE A EXTRAÇÃO ESTUDADA DA BEBIDA.. _____	35
FIGURA 6 – VARIAÇÃO DO TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES DURANTE A EXTRAÇÃO ESTUDADA DA BEBIDA. _____	35
FIGURA 7 – VARIAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	36
FIGURA 8 – VARIAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	37
FIGURA 9 – VARIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO FRAP AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	38
FIGURA 10 – VARIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH AO LONGO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO DO <i>COLD BREW</i> . _____	38

LISTAS DE TABELAS

TABELA 1 — DADOS REFERENTES A COLORAÇÃO DOS EXTRATOS PELO SISTEMA L*A*B DOS EXTRATOS DE CAFÉ. _____	29
TABELA 2 – DADOS REFERENTES TDS, pH, ACIDEZ E CAFEÍNA DAS EXTRAÇÕES SOB TEMPERATURA AMBIENTE E REFRIGERADA DA BEBIDA. _____	34
TABELA 3 – DADOS REFERENTES A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS AMOSTRAS EM TEMPERATURA AMBIENTE E REFRIGERADA. _____	39
TABELA 4 – DADOS REFERENTES AO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES, AÇÚCARES TOTAIS E REDUTORES DAS BEBIDAS ANALISADAS. _____	40
TABELA 5 – DADOS DOS COEFICIENTES DE VARIAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DAS REPETIÇÕES DAS EXTRAÇÕES FEITAS. _____	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAF	Cafeína
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil.
FC	Folin Ciocalteu
FRAP	Habilidade de redução do ferro (Ferric Reducing Ability of Plasma)
GAE	Ácido gálico (Galic acid)
Glc	Glicose
IFB	Instituto Federal de Brasília
Min	Minutos
mL	Mililitros
mg	Miligramas
Rutin	Rutina
TDS	Sólidos dissolvidos totais (Total Suspended Solid)
TEAC	Capacidade antioxidante equivalente em trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

SUMÁRIO

<u>1</u>	<u>INTRODUÇÃO</u>	<u>12</u>
<u>2</u>	<u>OBJETIVOS</u>	<u>14</u>
2.1.	OBJETIVO GERAL	14
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
<u>3</u>	<u>REFERENCIAL TEÓRICO</u>	<u>15</u>
3.2.	A BEBIDA DE CAFÉ	15
3.3.	TIPOS DE EXTRAÇÃO	15
3.4.	VARIÁVEIS QUE AFETAM A EXTRAÇÃO DO CAFÉ	16
3.5.	O <i>COLD BREW</i>	19
3.6.	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	19
3.7.	ANÁLISES FITOQUÍMICAS	21
3.8.	RELAÇÃO ENTRE PESQUISA E ENSINO.	24
<u>4</u>	<u>MATERIAL E MÉTODO</u>	<u>25</u>
4.1.	OBTENÇÃO E PREPARO DA AMOSTRA	25
4.2.	ANÁLISES	25
4.3.	ANÁLISE ESTATÍSTICA:	28
4.4.	PROPOSTA DE AULAS	28
<u>5</u>	<u>RESULTADO E DISCUSSÃO</u>	<u>29</u>
5.1.	RESULTADOS DAS ANÁLISES.	29
5.2.	PROPOSTA DE AULAS	41
<u>6</u>	<u>CONCLUSÃO</u>	<u>43</u>
<u>7</u>	<u>REFERÊNCIAS</u>	<u>44</u>
<u>8</u>	<u>APENDICE A – PLANO DE AULA DO TEMA FITOQUÍMICOS</u>	<u>50</u>
<u>10</u>	<u>APENDICE C – PLANO DE AULA SOBRE DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA</u>	<u>53</u>

1 INTRODUÇÃO

O consumo de café segundo a Organização Internacional do Café (OIC) (2021) a estimativa de consumo de café, em 2020 e 2021, supera o valor de 160 milhões de sacas de 60kg de café, em que o Brasil é um grande responsável pela produção. Somente no Brasil também é um grande consumidor de café, o consumo estimado entre os anos de 2016 e 2021 foi de 25 milhões de sacas de 48 kg de café de 2016 a 2021, significando num aumento de 3,5% na média atual de consumo nesse período (ABIC, 2017). A produção de bebida de café mais popular é obtida pela adição de água quente ao grão de café moído, o qual extrai os compostos orgânicos responsáveis pelas características sensoriais da bebida. Entretanto, diferentes técnicas começam a ser empregadas para atender diferentes paladares e isto provocou um crescimento no mercado de cafeterias, onde o café gelado tem recebido destaque, apresentando um crescimento de consumo de 480% entre 2015 e 2017, conforme a pesquisa de mercado (BROWN, 2017). Esse crescimento também foi verificado no Brasil com a abertura de muitos *coffee shops* que têm ganhado mercado, para o consumo e atenção dos brasileiros, por oferecerem diferentes tipos e formas de consumo do café (ABIC, 2017).

O café arábica é a espécie que ganha mais destaque em termos comerciais e assim, é dito como o mais popular e recebe mais atenção na área de pesquisas científicas relacionadas a bebida. Todavia, o café pode ter suas propriedades alteradas devido a inúmeras variáveis no processo, que afetam a extração, influenciando o sabor final e a qualidade das bebidas de café. O grau de torra, a granulometria após a moagem, e a procedência do café (origem, clima, tipo de colheita) são uma dessas variáveis que interferem de forma significativa no produto final, afetando os compostos voláteis e não-voláteis liberados durante a extração e consequentemente afetando as características sensoriais da bebida. Outros fatores que alteram a qualidade do produto final são o tempo de extração e a temperatura durante o processo (CORDOBA et al., 2020; MESTDAGH; GLASBANIA; GIULIANO, 2017).

Embora a cafeína seja o componente mais popular do café, essa substância não é o produto majoritário presente no grão cru, representando 1,2%, outros componentes como polissacarídeos (44,9%), lipídios (16%), proteínas (11%) e ácidos orgânicos (7,9%) detêm maiores partes na composição desse material (MONTEIRO e TRUGO, 2005). Durante a torrefação dos grãos, os ácidos são submetidos a intensas transformações que geram novos derivados, o que resulta em uma redução significativa das concentrações dos ácidos orgânicos. Assim, no grão há um aumento na mistura de compostos químicos com propriedades bioativas e compostos voláteis que desempenham um papel intrínseco na

bebida final, que podem ser influenciados pela forma que esses processamentos dos grãos são feitos (SCHIEBER, 2018). Na composição do café está presente um alto nível de outros compostos relacionados a benefícios para a saúde, como as substâncias fenólicas, sendo considerado uma das fontes mais ricas desses componentes (FERRUZZI, 2010). As variáveis de extração da bebida, como tempo, temperatura, granulometria e razão café/água, são fatores determinantes para a obtenção desses componentes, assim como a conservação para que não ocorra a degradação, tendo uma defasagem a respeito de cinética da extração dos componentes da bebida (CÓRDOBA et al., 2020).

Segundo Fuller e Rao (2017) há uma extensa literatura que trata de análises químicas para o café quente, todavia, a literatura para o café gelado é extremamente limitada. As autoras ressaltam também a importância de diferenciar o café gelado (*Cold Brew*) do café com gelo (*Iced coffee*), uma vez que o primeiro é extraído em temperatura ambiente ou inferior, enquanto o outro é extraído utilizando água quente e posteriormente é refrigerado. A investigação das propriedades do café gelado tem recebido atenção da comunidade científica para pesquisas relacionadas a essa bebida, devido estar muito presente no cotidiano da população mundial e por apresentar benefícios a saúde quando consumida de forma moderada (POOLE et al., 2017), por apresentar compostos fenólicos com atividades antioxidantes que estão relacionados com diversas atividades biológicas (CÓRDOBA et al., 2019; BILGE, 2020 e KANG et al., 2019), como: prevenção de doenças cardiovasculares (FULLER e RAO, 2017), melhora no sistema nervoso, auxilia no combate ao câncer (MUZYKIEWICZ-SZYMAŃSKA et al., 2021) e Alzheimer, além de prevenir a aterosclerose e o envelhecimento precoce (MORAIS et al., 2013). Assim, este trabalho visa estudar os efeitos da extração do café do tipo *cold brew* nos compostos fenólicos, na cafeína e na capacidade antioxidante.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar o efeito da temperatura e do tempo de extração a frio por maceração do café arábica na composição físico-química e funcional na bebida do tipo *cold brew*.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da temperatura na extração do *cold brew*;
- Avaliar o efeito do tempo na extração do *cold brew*;
- Caracterizar físico-quimicamente as diferentes extrações do *cold brew*;
- Analisar os compostos fenólicos e flavonoides totais da bebida;
- Avaliar a capacidade antioxidante das diferentes extrações do *cold brew*;
- Comparar a bebida extraída pelo método tradicional com a do método *cold brew*.
- Propor aulas para o ensino de química baseado nas análises realizadas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A produção do café

A cafeicultura é uma importante atividade do setor agropecuário, no Brasil, desempenha uma função vital, em termos sociais e econômico. A produção do café, tanto no Brasil quanto no mundo, era tradicionalmente da espécie *Coffea arábica*, entretanto, a partir do século XIX, a espécie de *Coffea canefora*, conhecida como café robusta, devido a essa espécie ser resistente a doenças como ferrugem (FASSIO, 2015). Em 2022, segundo dados da ABIC, no Brasil em 2022, a área de produção do café arábica é de 1.452.577 hectares, enquanto a do café robusta é de 388.951 hectares.

3.2. A bebida de café

O café possui grande importância no comércio a nível nacional e internacional, seja como matéria prima e como produto. Devido à sua grande aceitabilidade pelo público em geral, os efeitos causados pelo consumo do café sempre foram alvo de estudo (ALVES, CASAL e OLIVEIRA, 2009). Tem-se um consumo diário de aproximadamente 2,25 bilhões de xícaras de café consumidas globalmente (PONTE, 2002), popularidade associada não só aos efeitos estimulantes da cafeína, mas também as suas características sensoriais e, recentemente, aos seus benefícios fisiológicos (POOLE et al, 2017).

Parâmetros que contribuem para uma qualidade geral da bebida estão relacionados a componentes objetivos, que incluem as características físico-químicas, sensoriais e nutricionais e componentes subjetivos que se referem às percepções individuais daqueles que consomem a bebida (CÓRDOBA et al, 2020). A composição química da bebida de café é afetada por diversos fatores: o tipo de grão, os processos durante e depois da colheita (secagem, torra, moagem) e o método de extração. A extração tem como objetivo dissolver os compostos presentes no grão torrado na água de extração, como carboidratos, lipídios, melanoidinas, ácidos e cafeína (MESTDAGH, GLABASNIA e GIULIANO, 2017).

3.3. Tipos de extração

A maioria das bebidas de café que são consumidas são preparadas por diversos métodos de extração a quente, a variar pelo contexto geográfico, sociocultural e das preferências pessoais. No geral, podem ser classificados em três grupos maiores: decocção, infusão e pressão; independentemente do método escolhido, essa extração é considerada uma extração sólido-líquido em que se tem um soluto em contato com um solvente e este contato proporciona a transferência de componentes (CÓRDOBA et al, 2019; PETRACCO,

2001).

Na extração por decocção utilizam-se altas temperaturas como meio para a extração dos componentes solúveis do grão de café, sendo mantidos em contato com determinada quantidade de solvente em temperatura apropriada, não necessariamente a do ponto de ebulição da água. Uma característica desse método é a ausência da filtragem, utilizando apenas a decantação para separar o excesso de pó, como na prensa francesa (RABELLO et al, 2013). A técnica de percolação consiste em um contato mais curto entre solvente e soluto, em que o solvente segue um fluxo entrando em contato com todo o soluto e extraindo dele alguns de seus componentes. A gravidade auxilia no fluxo do solvente e na filtragem do soluto, sendo o método mais empregado no Brasil, conhecido como café coado (CÓRDOBA et al, 2019, RABELLO et al, 2013). No método de pressão, é caracterizado pela aplicação de uma força perpendicular exercida sobre uma unidade de área. Assim, a pressão exercida acelera a velocidade da reação, promovendo assim a extração. Os tipos de café que empregam esta técnica é a prensa francesa, moka (cafeteira italiana) e expresso (CÓRDOBA et al, 2019).

Esses métodos citados não excedem 10 minutos de preparo. Contudo, nos últimos anos o método de extração a frio tem ganhado popularidade no mercado, tendo assim a necessidade do emprego de extrações com maior tempo de reação para que haja o preparo da bebida. O café *cold brew* podem ser preparados por diferentes métodos, como a infusão ou pelo método de prensagem francesa (FULLER e RAO, 2017; CÓRDOBA et al, 2019).

No entanto, a escolha da extração afeta a qualidade do produto, por meio das características físico-químicas (pH, acidez e sólidos solúveis), químicas (polifenóis, ácidos e alcaloides), atividade antioxidante e perfil de sabor (aroma, sabor, acidez e corpo). A extração dos compostos voláteis, que afetam diretamente a qualidade e aceitação da bebida, também pode ser afetada pela escolha do método, visto que os compostos extraídos mudam com o tempo de extração e temperatura do solvente (ANGELONI et al. 2019; MESTDAGH, GLABASNIA e GIULIANO, 2017).

3.4. Variáveis que afetam a extração do café

Inúmeras variáveis, que afetam a extração, podem influenciar no sabor final e na qualidade das bebidas de café. O grau de torra, a granulometria após a moagem, tempo de extração, temperatura durante o processo e a procedência do café (origem, clima, tipo de colheita) interferem de forma significativa no produto analisado afetando compostos voláteis e não-voláteis liberados durante a extração e conseqüentemente afetando as características finais observadas na bebida (MESTDAGH, GLABASNIA e GIULIANO, 2017). O tempo

de extração favorece mecanismos de extração que promovem extrações por meio da difusão intragranular, enquanto o mecanismo em temperaturas elevadas tem uma maior extração na superfície do grão, uma vez que a solubilidade dos compostos tende a crescer com o aumento da temperatura do solvente (CÓRDOBA et al, 2020 FULLER e RAO, 2017).

3.4.1. Origem do grão

O café originário de regiões distintas possui características e concentrações de determinados elementos químicos variados que interferem no produto. O solo e o clima são os fatores que mais afetam nesse quesito, pois as características presentes no solo são transmitidas para os grãos e o clima interfere no desenvolvimento deles, principalmente no metabolismo secundário das plantas, influenciando nos compostos que estão presentes no grão. É possível observar alterações nas características físico-químicas do café com relação aos nutrientes do solo (ANDERSON e SMITH, 2002). Na literatura há estudos que comparam diferentes propriedades físico-químicas de locais de produção de café e comprovam que há diferença entre essas regiões, comprovando a geografia da região e a qualidade do processo tecnológico empregado como fatores determinantes da bebida (COFFÉ, 2005).

3.4.2. A torra

A torra dos grãos de café pode ser classificada em quatro tipos distintos: clara, média, média-escura e escura. O processo consiste no aquecimento dos grãos verdes a temperaturas entre 220 °C e 235 °C por um curto período (10-20 minutos) (MONTEIRO et al, 2010). Os compostos que conferem o aroma característico da bebida não são originários da matriz grão do café verde, mas sim do processo tecnológico empregado para fazer a torra do café através da reação de Maillard. O café verde contém metoxi-pirazinas, que são degradadas durante o processo de torrefação, gerando compostos voláteis que conferem o aroma da bebida (DE MARIA; MOREIRA; TRUGO, 1999). Estudos mostram que graus de torra escuros causam grandes perdas de compostos voláteis dos grãos em comparação com os demais, afetando de forma mais significativa o sabor final. Algumas mudanças relacionadas à macronutrientes como sacarídeos e proteínas também podem afetar perfil de sabor e aroma visto que essas reações são movidas à alta temperatura e promovem as reações de Maillard que produzem as melanoidinas relacionadas ao sabor e aroma do café (KUČERA et al, 2016). A reação de Maillard é caracterizada por conter uma complexa cascata de reações, surgindo principalmente durante o aquecimento ou armazenamento prolongado de produtos, assim, é

provocado modificações nos componentes do alimento, favorecendo a formação de compostos que caracterizam os atributos sensoriais do alimento que é submetido a processos tecnológicos de aquecimento (FRANCISQUINI et al, 2017).

3.4.3. Granulometria

A moagem do café consiste na quebra do grão em pequenas partículas ou fragmentos. Esse processo é feito geralmente utilizando-se um moinho, as medidas são ajustadas de acordo com o método de extração a ser utilizado. O tamanho das partículas tem relação com a extração de diversos componentes. Moer o café aumenta a superfície de contato, e assim aumenta a interação entre soluto e solvente, promovendo uma melhor extração para métodos que utilizam o contato direto entre soluto e solvente por longos períodos de tempo. O contato com os poros Intra granulares. Permite a difusão dos compostos intragranulares e o fluxo do solvente entre os grãos moídos. Simultaneamente são liberados também CO₂ e compostos orgânicos voláteis. A granulometria afeta diretamente a cinética da extração, pois para uma extração de café do tipo *cold brew* é necessário um maior tempo de contato entre solvente e soluto sem o uso de temperaturas elevadas, portanto a granulometria adequada pode garantir a extração correta dos componentes de interesse (FULLER e RAO, 2017).

3.4.4. Proporção entre soluto e solvente

Consiste na relação entre a massa de café em contato com determinada quantidade de água usada no preparo da bebida. Em uma maior quantidade de café o valor dessa relação aumenta sem afetar o rendimento da extração. Além disso, uma proporção equivocada pode resultar em bebidas com um sabor pouco desenvolvido ou bebidas muito fortes que podem apresentar sabores desagradáveis. Essa relação não pode ser limitada apenas à quantidade de ingredientes que será utilizada na extração, ela possui uma relação direta com o mecanismo de extração, pois afeta o fluxo da água, a transferência de massa, entre outros (CÓRDOBA et al, 2020).

3.4.5. Tempo de extração

O tempo de extração consiste no tempo em que os grãos de café permanecem em contato com o solvente, afetando o sabor e a qualidade da bebida. A eficiência da extração descreve a quantidade de determinados compostos, antes presentes nos grãos de café, liberados para o solvente em um determinado período. No geral, os açúcares, ácidos orgânicos e cafeína são extraídos nos primeiros segundos de extração. Nos métodos filtrados a quente, boa parte dos componentes é extraída nos primeiros minutos de extração e duram

menos de 10 minutos, enquanto métodos de extração a frio possuem a estabilidade da cinética da extração somente após às 6 ou 7 horas (CÓRDOBA et al, 2020). O tempo de extração juntamente com o método afetam também as propriedades antioxidantes no produto visto que podem influenciar na velocidade de extração de diversos compostos que apresentam essas propriedades (LUDWIG et al, 2012).

3.4.6. Temperatura de extração

A temperatura favorece a extração de compostos químicos presentes na borra de café. Quanto maior a temperatura, mais rápido será essa extração, pois a energia cinética da água é maior em altas temperaturas, o que favorece a solubilidade, que no geral, cresce a solubilidade com o aumento da temperatura. Porém, em temperaturas elevadas ocorrem grandes liberações de compostos voláteis, que por sua vez, podem afetar nas características das bebidas à base decafé. Além disso, métodos de extração a quente tendem a extrair mais ácidos protonados que extrações a frio (CÓRDOBA et al, 2020; FULLER e RAO, 2017).

3.5. O Cold Brew

O *cold brew* é uma bebida em ascensão no mercado, sendo divulgado e comercializado como um café *gourmet*, dita pelo marketing como uma bebida extraída a frio, com menor acidez e maior quantidade de cafeína, pois o café fica mais tempo em contato com o solvente, podendo ser mais doce que o café extraído a quente e mais concentrado que o mesmo. Ele é extraído em temperatura ambiente ou de refrigeração e exige um maior tempo de contato que gira em torno de 8 a 12h (CÓRDOBA et al, 2019).

Apesar da escassez de pesquisas na área, existem estudos acerca da produção do *cold brew*. Tais estudos abordam principalmente o perfil de sabor e a aceitação do consumidor. Nestes estudos os métodos encontrados são a prensa francesa e o café filtrado (ANGELONI et al, 2019). As diferenças entre *cold* e *hot brew* são mais evidentes, porém é possível identificar também diferenças entre métodos de extração a frio. Dependendo do método de extração e concentração de café, há diferença na extração do polifenol, teor de cafeína, sólidos totais, capacidade antioxidante e perfil volátil, o que afeta na qualidade da bebida final do café, pois as quantidades de compostos voláteis e não voláteis extraídas terão concentrações distintas (MESTDAGH, GLABASNIA e GIULIANO, 2017).

3.6. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas de alimentos visam a quantificação, determinação e/ou

qualificação de componentes presentes. Para que se possa fazer uma análise físico-química do café é necessário realizar primeiro uma extração, pois durante o processo, são liberados na água componentes solúveis responsáveis pela característica da bebida. Desse modo, tornando possível a análise das mesmas (CÓRDOBA et al, 2020). Entre as análises desse tipo temos sólidos solúveis totais, rendimento, pH e acidez.

3.6.1. Sólidos solúveis ou sólidos dissolvidos totais (TDS)

O teor de sólidos solúveis representa o conteúdo de açúcares, principalmente da glicose, frutose e sacarose, além dos ácidos orgânicos e outros constituintes menores que estão presentes na bebida, e que possuem uma relação direta com o grau de doçura da bebida. Como o teor de sólidos solúveis interfere no ponto de colheita e no rendimento de produtos vegetais durante o processamento industrial é importante saber como avaliar os processos metabólicos envolvidos para entender e manipular suas aplicações (LIMA, 2016).

Sabe-se que o valor obtido na análise de sólidos solúveis totais tem relação direta com a “força” da bebida produzida ou sua concentração. Um valor alto indica uma bebida mais forte ou concentrada de TDS e um valor mais baixo indica uma bebida mais fraca ou menos concentrada. Essa relação se deve ao fato de que essa análise reflete diretamente o potencial do método de extração do café para obtenção da bebida. Assim, os valores de sólidos solúveis podem ser afetados por algumas variáveis de extração, sendo as mais relevantes, temperatura, pressão, razão entre café e água e o método escolhido (ANGELONI et al. 2019; PETRACCO, 2001).

3.6.2. pH

No café, a acidez aparente, dada pelo pH, é relevante por ser perceptível ao sabor. O valor do pH é um indicio da possibilidade de que mudanças possam ter acontecido com os frutos de café como fermentações indesejáveis, consequências de erros no manejo pré e pós-colheita (LESSA, 2014). O pH de uma solução serve para medir o grau de acidez, neutralidade ou alcalinidade de determinada solução, representa a quantidade de íons H^+ presente na solução, no caso estudado, na bebida de café (CÓRDOBA et al, 2020). As variações no pH com a torração possuem grande relevância devido a sua interferência na aceitação do produto pelo consumidor e indicam como ideal o pH entre 4,95 e 5,20 tornando a bebida palatável sem excesso de amargor e/ou acidez (SIVETZ e DESROSIER, 1979).

3.6.3. Acidez titulável

A acidez titulável corresponde à medida de todos os prótons ácidos presentes em

uma amostra, incluindo prótons não dissociados, que podem ser neutralizados por meio da ação de uma base forte. A acidez percebida no café é um quesito importante para a atribuição das características sensoriais do produto e o grau de intensidade é influenciado por vários fatores como condições climáticas durante secagem e colheita, local de origem, tipo de processamento e estágio de maturação (SILVA et al, 2009). Em bebidas de café, a acidez titulável precisa ser acompanhada por um medidor potenciométrico, pois o ponto de viragem da titulação dificilmente é visto, devido a coloração escura. O resultado desta análise de acidez pode ser expressa em mL de solução molar por cento ou em gramas do componente ácido principal, como o ácido clorogênico (FULLER e RAO, 2017; IAL, 2008). Resultados mostram que a acidez do *cold brew* é inferior ao extraído em altas temperaturas e pode variar consideravelmente a depender dos parâmetros de obtenção e extração da bebida (CÓRDOBA et al, 2019).

3.6.4. Cafeína

A cafeína, é um composto alcaloide do grupo das xantinas, sendo amplamente encontrado no café. Apresenta atividades biológicas importantes, tais como as mais variadas atividades antioxidantes e antimicrobianas, além de estimulante. É um dos alcaloides mais ingeridos no planeta, causando alterações no sistema nervoso central, sistema cardiovascular e homeostase de cálcio. Os efeitos da cafeína são descritos como redução da fadiga, concomitante na melhoria de desempenho em atividades que requerem maior vigilância e aumento da capacidade de alerta. Embora o consumo deste composto possa afetar negativamente a qualidade do sono e controle motor, além de causar irritabilidade em casos com quadro de ansiedade (De MARIA e MOREIRA, 2007; CASTELLANOS e RAPOPORT, 2003; SMITH, 2002).

3.7. Análises fitoquímicas

3.7.1. Fenólicos totais

Os compostos fenólicos são uma grande família de moléculas, são constituídos por um anel aromático e um ou mais hidroxilas, o que faz com que apresentem capacidade antioxidante. Essa atividade pode se apresentar como um mecanismo de defesa contra ações dos radicais livres. São substâncias presentes no metabolismo secundário das plantas, sendo dividido em distintas classes, como fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonóides, taninos, etc.

Mesmo com essa extensa variação na diversidade estrutural de polifenóis presente

na natureza, os mais importantes para a dieta humana são os ácidos hidroxibenzoicos, os ácidos hidroxicinâmicos, os flavonoides e as proantocianidinas (VUOLO et al, 2014). No café, os principais compostos fenólicos presentes no café são os derivados do ácido hidroxicinâmico, atingindo até 11,3% do peso seco do grão de café (BONDAM et al, 2022). Os perfis dos compostos fenólicos dos grãos de café podem sofrer alterações no processo de torra, onde o ácido clorogênico é degradado, até certo ponto, em ácidos cafeico, ferúlico e cumárico (PINTÁC et al, 2022; VIGNOLI et al, 2014). Dentre as diversas categorias de antioxidantes naturais, os compostos fenólicos têm recebido grande destaque, as pesquisas indicam que os compostos fenólicos são fitoquímicos que apresentam grande interesse nutricional por contribuir para a saúde humana. Sendo assim, o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos é indicado como prevenção para diversas patologias como prevenção do câncer e de doenças cardiovasculares (SHAHIDI; ALASALVAR; LIYANA- PATHIRANA, 2007; CASQUETE et al, 2015).

A obtenção dos extratos ricos em polifenóis tem relação direta com o método de extração, sendo a modificação dos parâmetros como método, quantidade de solvente, origem dos produtos, etc. afetam os diferentes compostos fenólicos extraídos da matriz (BONDAM et al, 2022). A pressão pode afetar a quantidade de compostos fenólicos extraídos do alimento, uma vez que pode romper as paredes celulares dos mesmos e as ligações hidrofóbicas presentes. Um maior tempo de exposição entre soluto e solvente pode aumentar os valores obtidos para compostos fenólicos totais. Observa-se também que a granulometria escolhida depende do método de extração e do tempo para obter maiores concentrações de fenólicos na bebida, podendo o café extraído a frio apresentar valores superiores ao café extraído a quente, mas é preciso ter cuidado, pois maiores concentrações de fenólicos tendem levar a rejeição pelo consumidor devido ao sabor acentuado (CÓRDOBA et al, 2019).

3.7.2. Flavonoides totais

Os flavonoides são uma ampla classe dentro dos fenólicos totais que possuem grandes propriedades farmacológicas para o corpo humano, dentre elas, se destaca a atividade antioxidante. Dentro dessa subclasse. Já foram identificados mais de quatro mil compostos, encontrados nos mais diversos alimentos de consumo cotidiano como verduras, frutas, chás, etc. (LOPES et al, 2010). Os compostos flavonoides contribuem para a coloração de plantas e frutas, sendo, do ponto de vista do consumidor, um ponto de importância e a deterioração da cor é causada pela perda de flavonoides, que alteram a configuração química do pigmento. Tais mudanças podem ocorrer devido às alterações de

temperatura, pH ou água, por exemplo. Flavonoides podem reagir com diversos tipos de radicais livres, formando compostos estáveis e retardando o envelhecimento das células. Alguns trabalhos citam também a possibilidade de ação anti-inflamatória e anticancerígena (CRUZ, MORAIS e CASAL, 2015). Espera-se que cafés apresentem quantidade considerável de antocianinas com coloração vermelha e amarela. Não se tem dados sobre questões como a quantidade ideal a ser ingerida por uma pessoa (SOUSA, 2017).

3.7.3. A capacidade antioxidante

Antioxidantes são utilizados na indústria alimentícia para desacelerar o processo de oxidação (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Os compostos que apresentam maior capacidade antioxidante presentes no café são conhecidos como ácidos clorogênicos e são responsáveis pelas propriedades funcionais do café como sua capacidade antioxidante, anti-inflamatória, efeitos anticarcinogênicos, entre outros (ALVES, CASAL e OLIVEIRA, 2009; LESSA, 2014; ANGELONI et al, 2019). Além disso, durante o processo da torra, a reação de Maillard ocorre formando compostos de melanoidina, um dos principais componentes da bebida de café, representando cerca de 25% da matéria seca (BORRELI et al, 2002). A alta capacidade da bebida de café é confirmada por estudos anteriores, do tipo *in vitro* e *in vivo*, e surge que as melanoidinas, além dos polifenóis, são os responsáveis por essa capacidade antioxidante (MARTINI et al, 2016; YASHIN et al, 2013).

No entanto, esses ácidos também são por vezes associados a sabores ou aromas ruins no produto visto que são precursores de fenóis, característicos por atribuições desagradáveis à bebida (ANGELONI et al, 2019). Sendo a bebida de café considerada como uma das principais fontes de polifenóis com atividade antioxidante entre os alimentos (KAMIYAMA et al, 2015). A extração desses compostos tem grande relação com o método utilizado e o tempo de extração, como por exemplo em extrações de café expresso, onde 75% desses componentes são obtidos nos primeiros segundos da reação (CÓRDOBA et al, 2019). Em comparação com cafés extraídos a quente, utilizando o mesmo grão, o *cold brew* apresenta valores menores de acidez, porém, também apresentam menor atividade antioxidante, isso é atribuído à temperatura, visto que o *cold brew* preparado a 25 °C também possui maior atividade que aquele preparado em temperaturas menores (FULLER e RAO, 2017). A avaliação da capacidade antioxidante pode ser determinada por diversas análises *in vitro* como o método de sequestro do radical DPPH e redução do ferro com o método FRAP. Nesse primeiro método, a atividade antioxidante é avaliada com extratos que reagem com um radical estável, o 2,2-difenil-1-picrilidrazil, conhecido como DPPH, o que ocorre são os

compostos presentes no café que possuem capacidade antioxidante capturam o radical DPPH, causando a redução de sua concentração e consequentemente a sua absorbância durante a reação (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET, 1995). Já a determinação pelo método FRAP consiste na avaliação da atividade antioxidante pela redução de uma solução de um complexo obtido pela mistura do reagente (2,4,6-tri-2-piridil-1,3,5-triazina), conhecido como TPTZ misturado com uma solução de cloreto férrico (III), formando um complexo entre o íon ferro (III) e o TPTZ ao reagir com os antioxidantes causa redução do ferro(III) para ferro(II), assim, alterando sua coloração (RUFINO et al, 2008).

3.8. Relação entre pesquisa e ensino.

Na perspectiva de Chassot (2003), a química é vista como uma linguagem para a compreensão da natureza e do contexto em que o indivíduo está inserido, essa ciência possui grande importância por lidar com o estudo das transformações das substâncias. A necessidade da compreensão do universo se faz para o exercício da cidadania de maneira crítica e a lidar com os problemas que aparecem no cotidiano. Nesse contexto, aulas ditas tradicionais que favorecem a memorização em detrimento da internalização do conteúdo, não se demonstram eficientes para uma aprendizagem significativa. Assim, aulas alternativas que relacionam a prática laboratorial com o conteúdo teórico se demonstra uma alternativa para que haja a internalização do conteúdo (MORTIMER, 2000). Entretanto, exige capacitação do docente para que possa conduzir experimentos, seja em laboratório ou não, com responsabilidade e domínio do conteúdo a ser lecionado. Dessa forma, provoca uma relação intrínseca na formação docente o trabalho em pesquisa, promovendo que o docente adquira conhecimentos práticos e aprofunde no teórico, demonstrando a relação entre o ensino e pesquisa.

4 MATERIAL E MÉTODO

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Alimentos do Instituto Federal de Brasília *campus* Gama (IFB).

4.1. Obtenção e Preparo da amostra

O café em grão de torra média foi adquirido em um estabelecimento de produção próprio localizado em Brasília-DF, classificado pela ABIC como superior. A preparação da amostra ocorreu seguindo uma receita adaptada do site de culinária do *New York Times* conforme descrito por Fuller e Rao (2017). O grão adquirido foi submetido a moagem em moedor de cozinha automático no tamanho médio. Em seguida foram pesadas 35,0 g de café em um pote de vidro com tampa de 500 mL, adicionados 350 mL de água mineral adquirida no mercado local, as amostras foram homogeneizadas manualmente e armazenadas em duas temperaturas diferentes, um ambiente (20 a 25 °C) e outra de refrigeração (4 °C), ambas foram extraídas por diferentes tempos (15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 720 e 1440 minutos), cada extração foi feita em potes de vidro individual. Para as amostras armazenadas em temperatura refrigerada, a água utilizada na extração estava a 4 °C. Após cada período as amostras foram filtradas utilizando filtro qualitativo comercial. Uma outra amostra extraída a 95 °C seguindo o mesmo procedimento foi executada para servir de parâmetro de comparação (controle). O extrato obtido foi utilizado para análises de pH, acidez e rendimento, o restante foi armazenado em freezer até a realização das demais análises. Para verificar a variação na repetição da extração, foram realizadas extrações em duplicatas de três pontos aleatórios 3 meses após a execução da primeira etapa.

4.2. Análises

4.2.1. Cor

A análise de cor foi feita utilizando um colorímetro digital em ambiente de luz controlada, utilizou-se cubetas de quartzo para as leituras das amostras, em triplicata, adaptando o método de CÖMERT; MOGOL e GÖKMEN (2020). Os resultados foram expressos no sistema $L^*a^*b^*$, onde consiste em coordenadas L^* , a^* , b^* , onde o valor L^* indica luminosidade, a^* indica vermelhidão ou verde e b^* indica amarelo ou azul.

4.2.2. pH e acidez

A análise de pH foi realizada por meio de leitura direta, imergindo o eletrodo do pHmetro (Nova InstrumentsTM pH/mv) na amostra. Para a análise de acidez, o método

adotado foi o descrito por Rao e Fuller (2018) e Gloess et al (2013), onde uma alíquota de 40 mL de café foi titulada com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, até o pH 6,5. O procedimento foi realizado em triplicata e os resultados expressos em mililitros de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹ por litro de café (mL NaOH 0,1 mol L⁻¹).

4.2.3. Sólidos dissolvidos totais (TDS)

O TDS foi realizado pelo método modificado de Córdoba et al (2019), uma alíquota de 10 mL de amostra foi levada à estufa a 105 °C até o peso constante. O resultado foi expresso em grama de sólidos por 100 mL de amostra.

4.2.4. Cafeína

A análise de cafeína foi realizada segundo Habtamu e Belay (2020) por espectrofotometria. Para determinar o melhor comprimento de onda, utilizou-se uma varredura de 200 até 400 nm, utilizando 7 concentrações diferentes do padrão de cafeína. Em seguida, derivou-se os espectros obtidos e utilizou técnica de medição "baseline to peak" através da curva de calibração obtida, gerando uma curva de primeira ordem, onde o melhor ponto a partir da curva de calibração foi o de $\lambda = 274$ nm. Em seguida, as amostras foram diluídas para a concentração de 0,4 mg mL⁻¹ e lidas em duplicatas no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em miligramas de cafeína por litro de café (mg CAF L⁻¹).

4.2.5. Açúcares totais e redutores:

Segundo Miller (1959) modificado por Maldonade, Carvalho e Ferreira (2013). Para o ensaio de açúcares totais, 1 mL da amostra foi hidrolisada utilizando 2 mL de ácido clorídrico 2 mol L⁻¹ e aquecida em banho maria durante 10 minutos a 95 °C, em seguida, resfriado em banho de gelo e adicionou-se 2 mL de hidróxido de sódio 2 mol L⁻¹ para fins de neutralização. A amostra hidrolisada foi centrifugada e o sobrenadante usado para a reação e determinação do teor de açúcares totais. A análise foi realizada em triplicata, com 3 diferentes diluições da amostra e lida em espectrofotômetro a 540 nm, ambos os ensaios para determinação de açúcares totais e redutores, foram submetidos a reação utilizando 0,2 mL de amostra e 0,2 mL do reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), levado a banho maria a 95 °C durante 5 minutos, em seguida, submetido a resfriamento e completado o volume para 2 mL total, adicionando 1,6 mL de água destilada. Os resultados foram obtidos por meio de regressão linear através de uma curva padrão (0,2 a 1,6 mg Glc L⁻¹) utilizando glicose como padrão de referência, expressando os resultados em miligramas de glicose por litro de café (mg Glc L⁻¹).

4.2.6. Fenólicos totais

A análise de fenólicos totais foi realizada através do método de Folin-Ciocalteu conforme Singleton e Rossi (1965). A análise foi efetuada com as três concentrações da amostra, submetida a reação em meio básico em triplicata composto por 1 mL de reagente Folin (5%), 0,8 mL de carbonato de sódio (4%) e 0,2 mL de amostra e armazenado durante 120 minutos em ausência de luz. Após o período, foi efetuada a leitura no espectrofotômetro a 740nm. O resultado foi obtido por meio de regressão linear através da curva padrão de 7 pontos de ácido gálico (10 a 100 mg GAE L⁻¹) e expresso em miligrama de ácido gálico (GAE) por litro de café (mg GAE L⁻¹).

4.2.7. Flavonoides

A análise de flavonoides foi executada segundo o método de Zhishen; Mengcheng e Jianming (1999), com algumas modificações, similar à de fenólicos totais, realizada em triplicata em três diferentes diluições, com a leitura efetuada em espectrofotômetro a 420 nm após o tempo de espera de 30 minutos da reação. A reação ocorreu por meio da proporção de 1,6 mL de cloreto de alumínio (0,1%) e 0,4mL de amostra, armazenada durante 30 minutos em ambiente com ausência de luz. Os resultados foram obtidos por meio de regressão linear através de curvas padrões (3,5 a 45 mg Rutin L⁻¹) previamente preparada, e o resultado foi expresso em miligramas de rutina (rutin) por grama de café (mg Rutin L⁻¹).

4.2.8. Atividade antioxidante pelo método FRAP

Realizada com cinco amostras de cada ensaio, as de tempo de 15, 180, 480, 720 e 1440 minutos, seguindo Rufino et al (2006) com o método de determinação antioxidante por meio da redução do ferro (Ferro Reducing Antioxidant Power - FRAP). Realizado 4 diferentes diluições, submetidos a reações em volume total de 1mL, sendo na proporção de 30 µL de amostra, 90 µL de água e 900 µL do reagente FRAP. A reação foi armazenada em estufa protegida de luz durante 30 minutos a temperatura de 37 °C, com a leitura no comprimento de onda de 595 nm. Os resultados submetidos à regressão linear por meio de uma curva padrão, expressos em TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) por litro de café (mmol TEAC L⁻¹)

4.2.9. Atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH

Realizada com cinco amostras de cada ensaio, as de tempo de 15, 180, 480, 720 e 1440 minutos, com o método de Rufino et al (2008) de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-

hidrazil(DPPH) pelos antioxidantes. Foi realizado em 4 diferentes diluições, submetidos a reações em volume total de 1 mL, sendo 25 µL de amostra e 975 µL de reagente DPPH, armazenado em ambiente escuro por 30 minutos, e a leitura executada no comprimento de onda 515 nm. Os resultados submetidos à regressão linear por meio de uma curva padrão, expressos em TEAC (atividade antioxidante equivalente ao Trolox) por litro de café (mmol TEAC L⁻¹)

4.3. Análise estatística:

Foi aplicada em todas as repetições o teste ANOVA entre os diferentes tempos e o teste de Sidak para comparação entre os diferentes ensaios, teste de Dunnet para verificar diferença entre os tempos de extração de 720 e 1440 minutos e a amostra controle. Todos com grau de confiança de 95%, utilizando o software GraphPad Prism 8[®] e MiniTab 8[®].

4.4. Proposta de aulas

Através dos resultados obtidos na análise, simplificar os métodos aplicados para que sejam aplicadas em bebidas durante aulas do ensino médio. Assim, foram planejadas duas aulas, uma relacionada ao conteúdo de fenólicos totais e outra a determinação do teor de cafeína. Para cada aula, foi elaborado um plano de aula e o roteiro experimental para sua execução.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Resultados das análises.

A Tabela 1 que se segue apresenta os resultados da leitura na análise da coloração da bebida, os extratos se demonstram diferentes ao longo do tempo de extração e em temperaturas diferentes, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 — Dados referentes a coloração dos extratos pelo sistema L*a*b dos extratos de café.

Minutos	25 °C			4 °C		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
15	28,71 ± 0,06 ^{a,*}	18,56 ± 0,14 ^{ab,*}	19,32 ± 0,13 ^{a,*}	33,95 ± 0,03 ^a	17,90 ± 0,12 ^b	27,83 ± 0,04 ^a
30	27,84 ± 0,01 ^{b,*}	18,83 ± 0,09 ^{a,*}	17,96 ± 0,09 ^{b,*}	33,20 ± 0,04 ^b	17,61 ± 0,41 ^b	26,61 ± 0,28 ^b
45	25,94 ± 0,05 ^{c,*}	17,48 ± 0,13 ^{d,*}	14,08 ± 0,03 ^{c,*}	31,38 ± 0,11 ^c	18,74 ± 0,10 ^a	23,79 ± 0,20 ^c
60	25,73 ± 0,06 ^{cd,*}	17,83 ± 0,07 ^{cd,*}	14,08 ± 0,15 ^{c,*}	30,99 ± 0,06 ^d	18,60 ± 0,10 ^a	23,02 ± 0,20 ^d
90	25,62 ± 0,08 ^{d,*}	18,08 ± 0,14 ^{c,*}	14,25 ± 0,11 ^{c,*}	30,48 ± 0,05 ^e	18,70 ± 0,09 ^a	22,28 ± 0,17 ^e
120	25,64 ± 0,02 ^{d,*}	18,14 ± 0,13 ^{bc,*}	14,30 ± 0,04 ^{c,*}	30,54 ± 0,02 ^e	18,93 ± 0,05 ^a	22,51 ± 0,01 ^e
180	24,08 ± 0,04 ^{e,*}	16,53 ± 0,16 ^{e,*}	11,59 ± 0,07 ^{d,*}	28,27 ± 0,01 ^f	18,87 ± 0,03 ^a	18,81 ± 0,01 ^f
240	24,00 ± 0,01 ^{e,*}	16,50 ± 0,11 ^{e,*}	11,29 ± 0,10 ^{de,*}	28,37 ± 0,06 ^f	18,98 ± 0,23 ^a	18,96 ± 0,14 ^f
360	24,02 ± 0,18 ^{e,*}	16,33 ± 0,24 ^{e,*}	11,17 ± 0,14 ^{e,*}	28,27 ± 0,02 ^f	19,06 ± 0,02 ^a	18,74 ± 0,05 ^f
480	23,30 ± 0,13 ^{f,*}	15,22 ± 0,15 ^{f,*}	9,97 ± 0,05 ^{f,*}	24,58 ± 0,02 ⁱ	16,83 ± 0,14 ^c	12,47 ± 0,07 ^h
720	21,34 ± 0,04 ^{g,*,#}	12,04 ± 0,09 ^{g,*,#}	6,84 ± 0,03 ^{g,*,#}	24,94 ± 0,14 ^{h,#}	16,90 ± 0,22 ^{c,#}	12,87 ± 0,15 ^{h,#}
1440	22,71 ± 0,18 ^{h,*,#}	14,30 ± 0,20 ^{h,*,#}	8,93 ± 0,16 ^{h,*,#}	25,23 ± 0,02 ^{g,#}	17,64 ± 0,17 ^{b,#}	13,35 ± 0,24 ^{g,#}
Controle	22,23 ± 0,02	12,56 ± 0,11	8,08 ± 0,02			

*Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os tempos de extração (linhas), asterisco indica diferença estatística entre os ensaios (colunas) e cerquilha indica diferença significativa entre o valor comparado ao controle (aplicado somente aos tempos de 720 e 1440 minutos) por meio do teste de Tukey (p<0,05), teste de Sidak (p<0,05) e Dunnet (p<0,05).

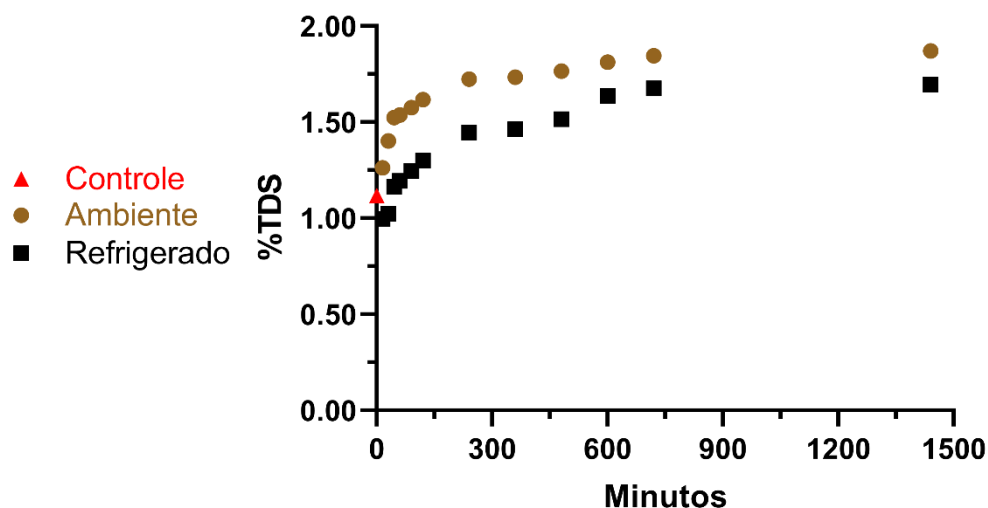
Fonte: dados da pesquisa.

Observou-se ao longo da extração um aumento da intensidade de coloração do extrato, desde o início o extrato em temperatura ambiente demonstrou coloração mais escura e após 1440 minutos, o extrato de temperatura refrigerada apresentou uma coloração levemente mais clara, em termos de luminosidade, que o de temperatura ambiente. Não foi possível perceber de forma qualitativa/visual diferença na coloração entre os extratos dos

tempos finais do café preparado em temperatura ambiente, do café controle, conforme comprovado quantitativamente pela Tabela 1.

A extração do *cold brew* foi avaliada quanto ao rendimento (TDS%) em diferentes tempos (Figura 1). O rendimento teve aumento ao decorrer da cinética, uma vez que o tempo de contato entre o café e o solvente foi maior, extraíndo mais compostos solúveis. Entre os tratamentos, foi possível observar um TDS inicial maior para o café extraído a temperatura ambiente, em detrimento do que foi extraído a temperatura de refrigeração, indicando velocidades de extração diferentes e no tempo final de 24 h os resultados não apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Resultados estes semelhantes ao de Córdoba et al (2019), em estudo de comparação da extração do *cold brew* com o café quente, observando valores com uma diferença menos significativa entre os ensaios no tempo final.

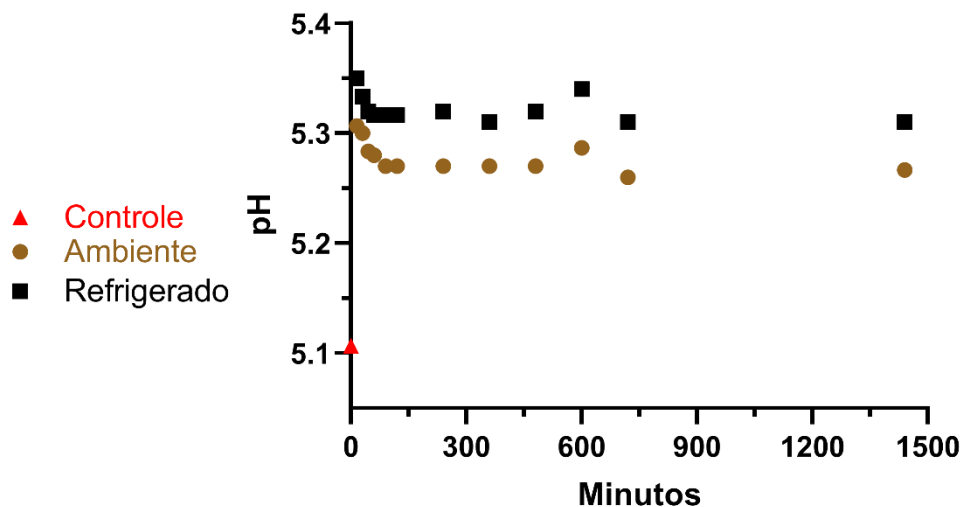
Figura 1 – Valores de TDS ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados da pesquisa

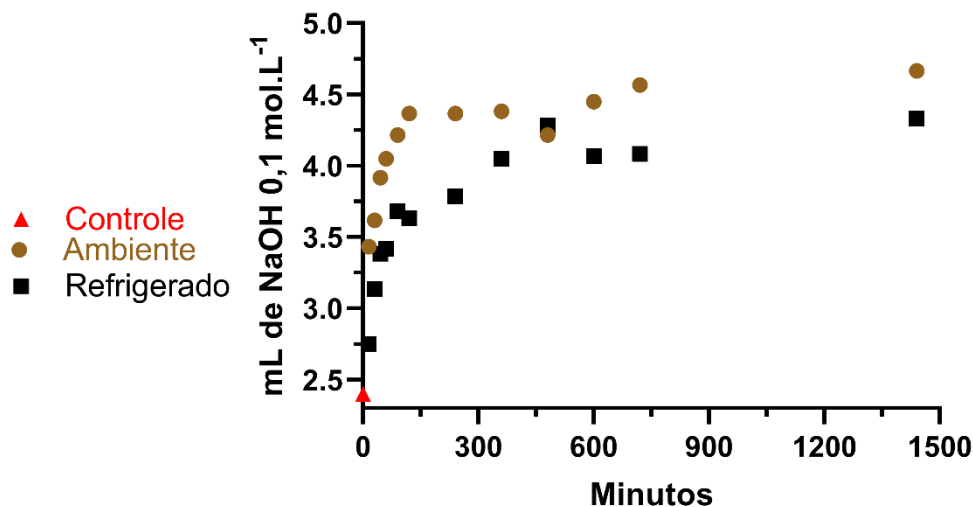
Os valores de pH e acidez podem ser observados nas Figuras 2 e 3, respectivamente. O café extraído a temperatura ambiente apresentou menores valores de pH e maiores valores de acidez ao longo da extração do que o café extraído sob refrigeração. Entretanto, ambos apresentaram uma tendência de estabilização nos valores de pH, após o período de 360 minutos.

Figura 2 – Variação do pH ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados da pesquisa

Figura 3 – Variação da acidez ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados da pesquisa

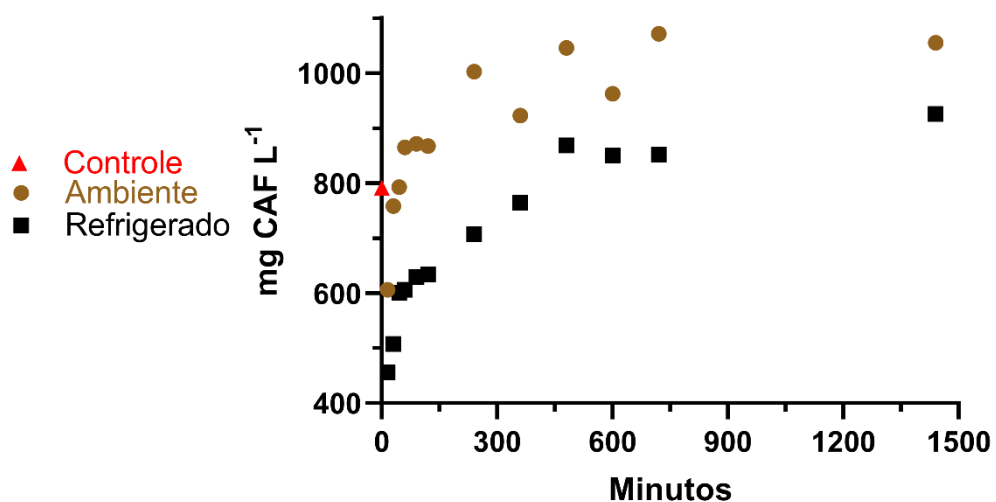
Embora se note uma diferença significativa em questão de pH, para a acidez não acontece o mesmo. A aferição do pH é realizada através da quantidade de prótons livres na solução e a titulação total é uma medida que reage através de uma base forte com todos os hidrogênios, protonados ou não, presentes em solução (Fuller e Rao, 2017; Gloess et al, 2013; Andueza et al, 2003). Portanto, embora tenha se encontrado mais hidrogênios protonados, ou seja, um valor mais ácido de pH para a temperatura ambiente, a titulação

alcalina revelou que a quantidade de ácidos totais presentes na bebida, para ambos, é praticamente idêntica. Assim, a variação entre as temperaturas de extração não resultou em uma diferença significativa quanto a acidez, uma vez que ambas as medidas são comparáveis entre si e superiores ao café extraído a temperatura elevada. Muzykiewicz-Szymańska et al (2021) e Fuller e Rao (2017), observaram que quanto mais elevada a temperatura da água utilizada para a preparação do café, mais alto o nível de acidez e mais baixo o pH, pois desde o primeiro até o último tempo de extração houve diferença significativa, onde o café extraído a temperaturas mais baixa apresentou comportamento mais alcalino. Contudo, ambos os cafés extraídos a frio possuem maior acidez do que o controle, o que não está de acordo com outros trabalhos como o de Fuller e Rao (2017) que traz o café quente com maior nível de acidez, assim, os resultados sugerem que há uma semelhança nos ácidos extraídos, mas com provável distinção na concentração e complexidade desses ácidos presentes nas bebidas. Os resultados obtidos indicam que a medida de pH e acidez, se junta a outros trabalhos que constaram como uma medida pobre para a química ácida complexa em extratos de café quente e frio (FULLER e RAO, 2018; GLOESS et al, 2013).

O teor de cafeína na cinética de extração foi aumentando até 360 minutos (Figura 4), após este período os valores foram similares, apresentando diferenças pequenas a partir desse tempo, independente da temperatura. De acordo com o modelo matemático proposto no trabalho de Spiro e Selwood (1984) que relata a cinética de extração da cafeína dos grãos de café, em temperatura ambiente, esse comportamento de estabilização pode acontecer pela difusão intergranular que passa a limitar a extração. O presente estudo também corrobora com Fuller et al (2017) e Portela et al (2021) que após o tempo de 360 minutos, a extração de cafeína foi pouco significativa no extrato final. Apesar do comportamento similar, a extração a temperatura ambiente extraiu mais cafeína do que a extração sob refrigeração, que por sua vez foram superiores ao do café preparado em altas temperaturas. Os valores superiores no teor de cafeína para as bebidas geladas podem ser explicados pelo tempo de preparo do café, embora a água quente favorece a extração nas camadas superficiais e o tempo prolongado de preparo do *cold brew* favorece a extração por meio da difusão (FULLER et al, 2017). Resultados semelhantes foram encontrados por pesquisas anteriores (ANGELONI et al, 2019; FULLER et al, 2017; LANE et al, 2017; PORTELA et al., 2021; RAO et al, 2020) indicando essa bebida como uma fonte dessa substância e que a extração desse composto se passa por dois diferentes mecanismos, sendo um para a temperatura elevada e outro para extrações a frio. Onde a temperatura elevada da água tem uma maior eficiência na extração

superficial, enquanto a extração a frio promove a difusão desse composto através da rede de poros intragranulares (FULLER et al, 2017) . Assim, como a diferença das bebidas tem como marco o tempo, a extração a quente feita em cerca de 10 minutos tem resultados comparáveis com os valores da bebida extraída a frio a partir de 45 minutos a 25 °C ou 360 minutos a 4 °C;

Figura 4 – Variação do teor de cafeína ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados da pesquisa

Tabela 2 – Dados referentes TDS, pH, acidez e cafeína das extrações sob temperatura ambiente e refrigerada da bebida.

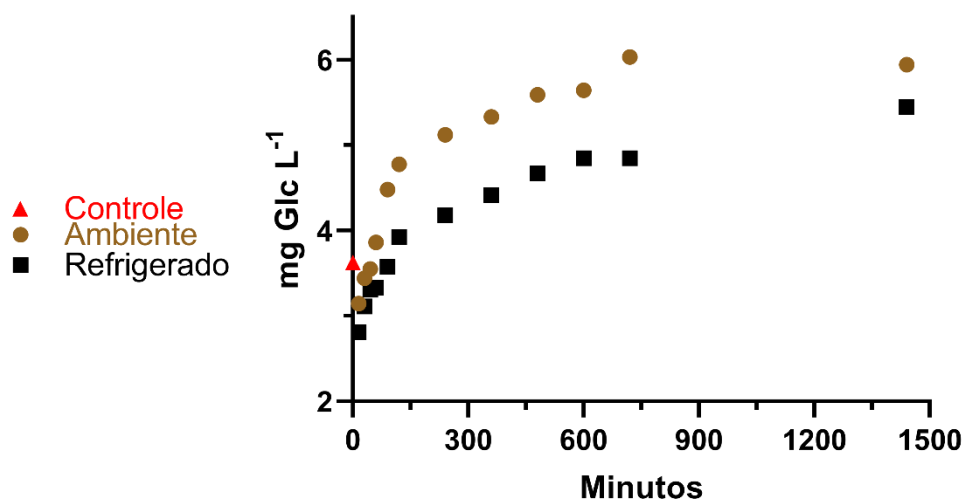
Minutos	TDS (%)		pH		mL NaOH 0,1 mol L ⁻¹ ao pH 6,5		mg CAF L ⁻¹	
	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C
15	1,26 ± 0,02 ^{i,*}	1,00, ± 0,00 ^h	5,31 ± 0,00 ^a	5,35 ± 0,00 ^a	2,75 ± 0,02 ^{g,*}	2,20 ± 0,03 ^f	605,92 ± 0,93 ^{k,*}	455,92 ± 2,80 ^k
30	1,40 ± 0,02 ^{h,*}	1,02 ± 0,02 ^h	5,30 ± 0,00 ^a	5,33 ± 0,01 ^b	2,90 ± 0,02 ^{f,*}	2,51 ± 0,02 ^e	758,55 ± 0,93 ^{i,*}	507,89 ± 1,86 ^j
45	1,53 ± 0,01 ^{g,*}	1,16 ± 0,02 ^g	5,28 ± 0,01 ^b	5,32 ± 0,00 ^c	3,13 ± 0,02 ^{e,*}	2,71 ± 0,02 ^d	792,76 ± 0,93 ^{i,*}	600,66 ± 0,93 ⁱ
60	1,54 ± 0,01 ^{fg,*}	1,19 ± 0,04 ^g	5,28 ± 0,00 ^{bc}	5,32 ± 0,00 ^{cd}	3,24 ± 0,04 ^{e,*}	2,73 ± 0,02 ^d	865,13 ± 0,92 ^{h,*}	605,92 ± 0,93 ^h
90	1,58 ± 0,04 ^{ef,*}	1,25 ± 0,00 ^f	5,27 ± 0,00 ^{bc}	5,32 ± 0,00 ^{cd}	3,37 ± 0,02 ^{d,*}	2,95 ± 0,02 ^c	871,71 ± 0,92 ^{g,*}	629,60 ± 0,93 ^g
120	1,61 ± 0,01 ^{e,*}	1,30 ± 0,00 ^e	5,27 ± 0,01 ^{cd}	5,32 ± 0,01 ^{cd}	3,49 ± 0,04 ^{cd,*}	2,91 ± 0,04 ^c	867,76 ± 0,93 ^{h,*}	634,21 ± 3,72 ^f
180	1,72 ± 0,03 ^{d,*}	1,45 ± 0,02 ^d	5,27 ± 0,00 ^{cd,*}	5,32 ± 0,00 ^c	3,49 ± 0,04 ^{cd,*}	3,03 ± 0,04 ^c	1002,63 ± 1,86 ^{d,*}	707,24 ± 0,93 ^e
240	1,73 ± 0,00 ^{d,*}	1,46 ± 0,01 ^d	5,27 ± 0,00 ^{cd,*}	5,31 ± 0,00 ^d	3,51 ± 0,05 ^{c,*}	3,24 ± 0,03 ^b	923,03 ± 0,93 ^{f,*}	765,13 ± 0,93 ^d
360	1,77 ± 0,00 ^{cd,*}	1,52 ± 0,02 ^c	5,27 ± 0,01 ^{cd,*}	5,32 ± 0,01 ^c	3,37 ± 0,07 ^d	3,43 ± 0,02 ^a	1046,05 ± 1,86 ^{c,*}	868,42 ± 1,86 ^b
480	1,81 ± 0,02 ^{bc,*}	1,64 ± 0,01 ^b	5,27 ± 0,01 ^{b,*}	5,31 ± 0,00 ^d	3,56 ± 0,03 ^{bc,*}	3,25 ± 0,03 ^b	962,5 ± 0,93 ^{e,*}	850,66 ± 0,93 ^c
720	1,84 ± 0,04 ^{ab,*,#}	1,68 ± 0,00 ^{ab,#}	5,26 ± 0,00 ^{d,*,#}	5,31 ± 0,01 ^{d,#}	3,65 ± 0,04 ^{ab,*,#}	3,27 ± 0,04 ^{b,#}	1071,71 ± 0,93 ^{b,*,#}	852,63 ± 1,86 ^{c,#}
1440	1,87 ± 0,00 ^{a,*,#}	1,70 ± 0,05 ^{a,#}	5,27 ± 0,01 ^{d,#}	5,31 ± 0,00 ^{d,#}	3,73 ± 0,04 ^{a,*,#}	3,46 ± 0,02 ^{a,#}	1055,26 ± 3,72 ^{a,*,#}	925,67 ± 0,93 ^{a,#}
Controle	1,23 ± 0,16		5,10 ± 0,01		2,59 ± 0,33		791,45 ± 0,47	

*Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os tempos de extração (linhas), asterisco indica diferença estatística entre os ensaios (colunas) e cerquilha indica diferença significativa entre o valor comparado ao controle (aplicável somente aos tempos de 720 e 1440 minutos) por meio do teste de Tukey (p<0,05), teste de Sidak (p<0,05) e Dunnet (p<0,05).

Fonte: dados da pesquisa

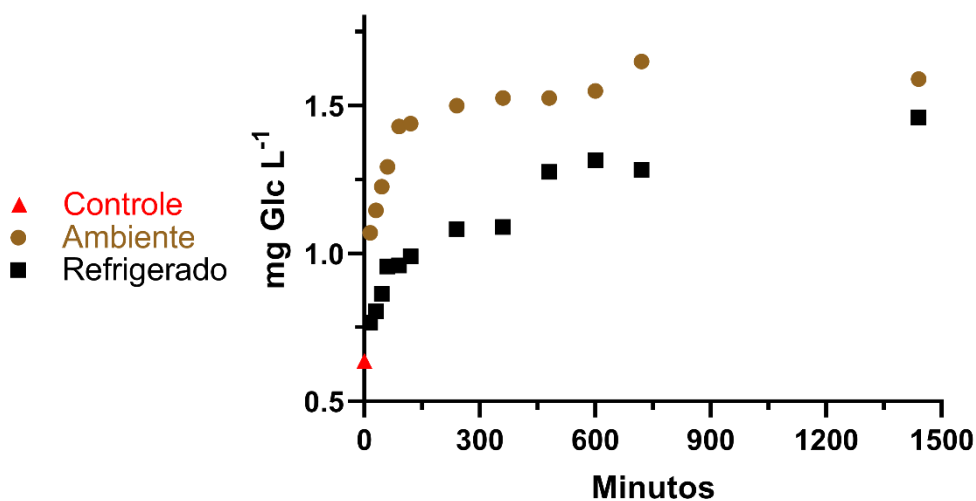
As Figuras 4 e 5 e a Tabela 4 apresentam os resultados da variação do teor de açúcares totais e redutores na extração da bebida, bem como na Tabela 4.

Figura 5 – Variação do teor de açúcares totais durante a extração estudada da bebida. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados obtidos experimentalmente

Figura 6 – Variação do teor de açúcares redutores durante a extração estudada da bebida. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



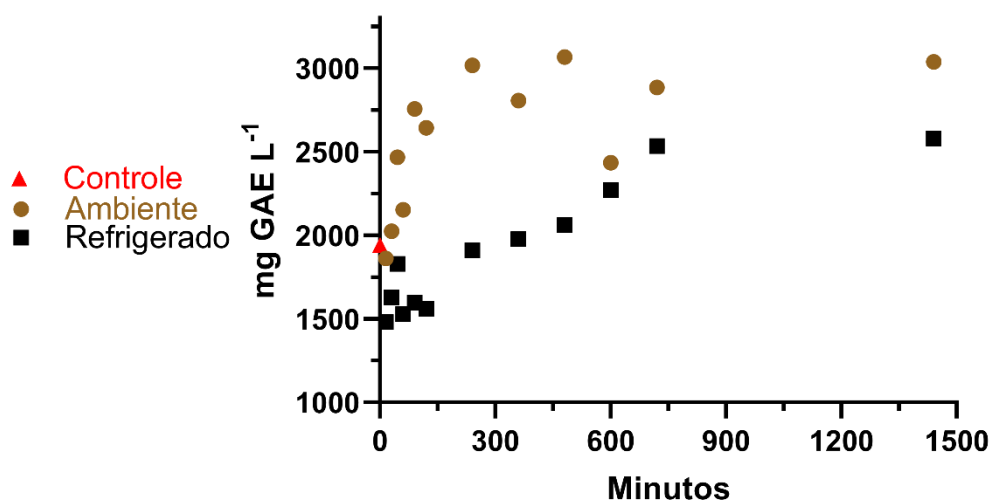
Fonte: dados obtidos experimentalmente.

Quanto à concentração de açúcares totais e redutores presentes nas amostras, desde o primeiro tempo, os valores para o ensaio realizado na temperatura ambiente demonstraram superiores ao refrigerado e após 60 min e 120 min, respectivamente, superaram o teor de açúcares presentes no café extraído a quente. A temperatura é um fator importante na solubilidade dos açúcares presentes nos diferentes extratos (Lopes et al, 2020), onde é

possível observar que o café extraído a temperatura mais elevadas teve um baixo teor de açúcares redutores em relação aos demais ensaios. Os resultados estão de acordo com a literatura, onde a sacarose, um açúcar não redutor, é o açúcar mais presente no café, podendo variar de 6 a 7% (PUERTA-QUINTERO, 2011) a depender de condições do grão.

A Figura 7 e Tabela 4 contém os dados obtidos a partir da análise dos compostos fenólicos totais nas bebidas de café.

Figura 7 – Variação dos compostos fenólicos totais ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.

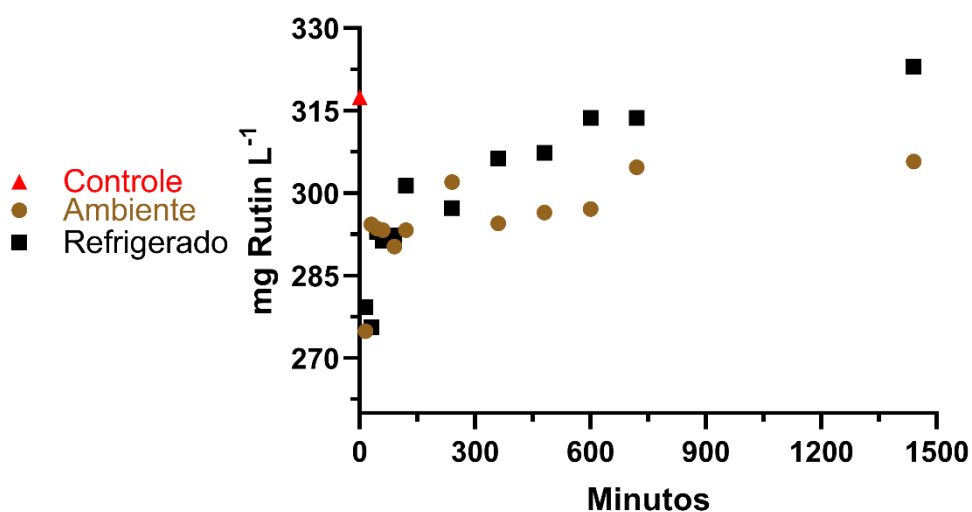


Fonte: dados obtidos experimentalmente

Os resultados obtidos para fenólicos totais mostraram uma diferença significativa entre os ensaios, onde o café extraído em temperatura ambiente apresentou valores mais elevados do que o refrigerado. O fato dos valores estarem próximos indica a dissolução dos compostos bioativos ao longo do tempo em função da temperatura da água, onde no tempo final de 24 horas (1440 minutos) ambos apresentam valores similares, ou seja, a extração a temperatura ambiente demonstrou ser mais eficiente na extração dos compostos fenólicos. Kang et al (2019) também encontraram valores maiores para fenólicos totais em cafés extraídos a temperatura de 25 °C do que a 4 °C. Os valores para fenólicos totais estão condizentes com o relatado por Bilge (2020) e maiores do que aqueles relatados por Córdoba et al (2019) sob condições de extrações similares, o que corrobora essa bebida com propriedades bioativas benéficas à saúde humana, como já citado anteriormente.

A Figura 8 traz os dados referentes à variação dos flavonoides totais ao longo da extração do *cold brew*, bem como a Tabela 4.

Figura 8 – Variação dos flavonoides totais ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.

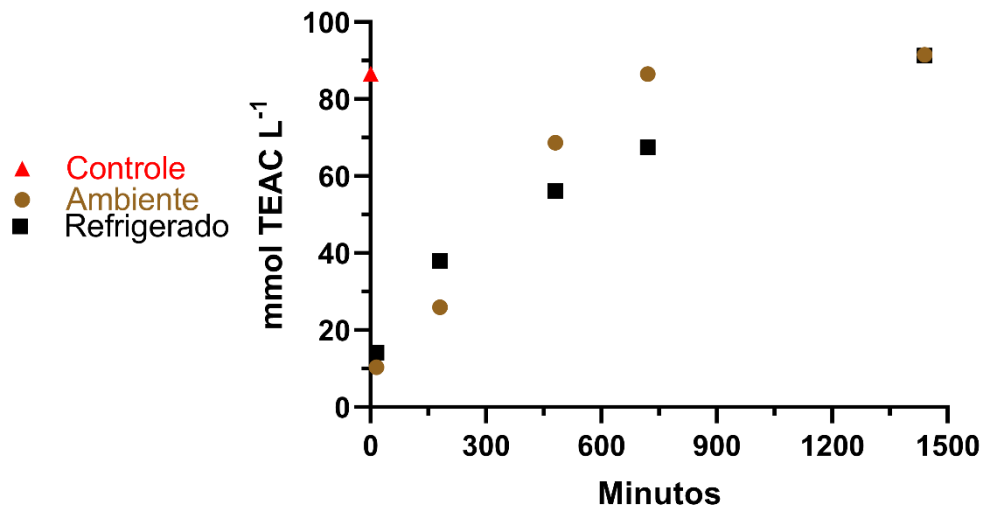


Fonte: dados da pesquisa.

Em ambas as temperaturas de extração a concentração de compostos fenólicos e flavonoides aumentou ao longo do tempo e em 360 minutos houve uma tendência a se manter constante. Todavia, um comportamento atípico foi observado, onde o valor para flavonoides do café extraído sob refrigeração, desde o início foi igual ou superior ao ensaio realizado em temperatura ambiente. Uma possível justificativa está numa degradação desses componentes a 25 °C, corroborando que a temperatura de refrigeração é mais adequada para uma extração e conservação desses compostos bioativos. Os valores obtidos em ambos os ensaios estão inferiores ao trabalho de Muzykiewicz-Szymańska et al (2021), onde obtiveram 38 a 45 mg de rutina/g de café, o que pode estar relacionado a propriedades do grão, como plantio, torra e tipo de processamento empregado no café analisado pelos trabalhos.

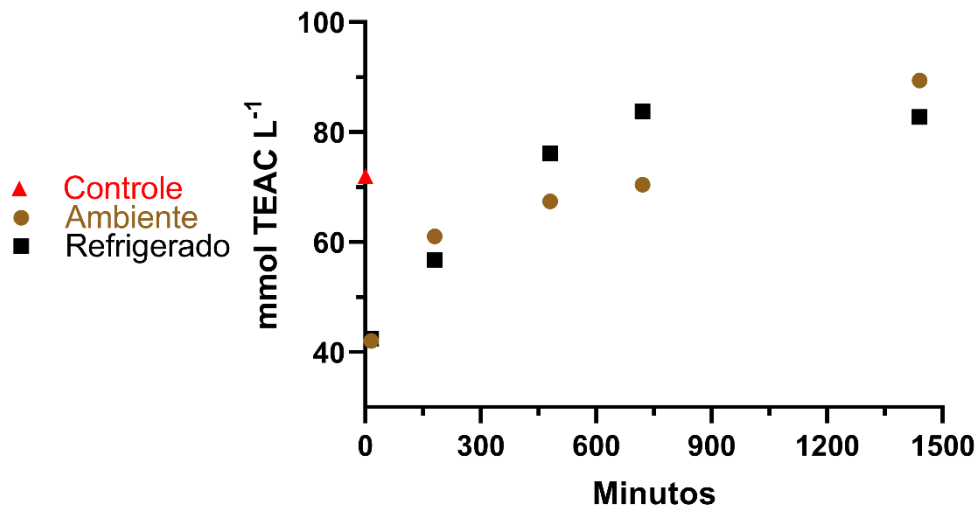
Os dados obtidos na determinação da capacidade antioxidante estão expressos nas Figuras 9 e 10 e os valores numéricos na Tabela 3.

Figura 9 – Variação da atividade antioxidante pelo método FRAP ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 10 – Variação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH ao longo do tempo de extração do *cold brew*. Indicado por círculos marrons a temperatura ambiente (25 °C), quadrados pretos a temperatura refrigerada de extração (4 °C) e o controle extraído a temperatura de ebulição representado por um triângulo vermelho no tempo de extração 0.



Fonte: dados da pesquisa.

Pelas duas metodologias de atividade oxidante é possível notar um comportamento não-linear para o crescimento em ambas as temperaturas, onde os valores para a temperatura ambiente tiveram uma diferença entre os tempos de 720 e 1440 minutos, enquanto os refrigerados tiveram a extração mais lenta até atingir o seu pico observado aos 1440 minutos (24 horas). Em ambos os casos, as atividades antioxidantes após o período total se

demonstram similares, a diferença foi somente no tempo para atingir o seu valor máximo detectado. Rao e Fuller (2018) e Muzykiewicz-Szymańska et al (2021) sugerem em seus trabalhos que o café preparado a quente possui uma atividade antioxidante maior, uma vez que a água a uma maior temperatura tem maior poder de molhar a superfície oleosa do café, aumentando a eficiência da extração dos compostos envolvidos. Todavia, o presente trabalho indica que a diferença não é considerável quando se trata de uma variação de temperatura menor, como de 4 °C para 25 °C. Rao e Fuller (2018) discutem que o potencial antioxidante está relacionado com a extração de diferentes compostos com esta capacidade, o que corrobora que o maior teor de flavonoides encontrado no ensaio refrigerado contribuiu significativamente para que se tenha uma maior capacidade antioxidante. Como relatado por Muzykiewicz-Szymańska et al (2021), a alta atividade antioxidante se deve a cafeína e outros ácidos presente no café, uma vez que ambas as atividades antioxidantes se equiparam no tempo final, indicando que a extração sob refrigeração mesmo obtendo um menor teor de cafeína e acidez e valores similares no teor de fenólicos totais, foi capaz de extrair compostos com a alta capacidade antioxidante.

Tabela 3 – Dados referentes a atividade antioxidante das amostras em temperatura ambiente e refrigerada.

Minutos	DPPH mg TEAC L ⁻¹		FRAP mg TEAC L ⁻¹	
	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C
15	42,47 ± 2,89 ^d	42,44 ± 4,63 ^c	10,40 ± 3,95 ^d	14,17 ± 4,22 ^d
180	61,033 ± 0,64 ^c	56,83 ± 2,84 ^b	25,93 ± 2,83 ^c	38,00 ± 4,28 ^c
480	67,433 ± 0,12 ^{b,*}	76,13 ± 0,85 ^a	68,67 ± 8,67 ^{b,*}	56,19 ± 8,67 ^b
720	69,80 ± 1,87 ^{b,*,#}	83,77 ± 1,25 ^a	86,57 ± 0,30 ^{a,*,#}	67,37 ± 5,63 ^b
1440	89,39 ± 1,63 ^{a,*}	82,7 ± 4,33 ^a	86,26 ± 8,40 ^{a,#}	91,27 ± 6,00 ^{a,#}
Controle	85,05 ± 3,47		71,05 ± 1,65	

*Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os tempos de extração (linhas), asterisco indica diferença estatística entre os ensaios (colunas) e cerquilha indica diferença significativa entre o valor comparado ao controle (aplicado somente aos tempos de 720 e 1440 minutos) por meio do teste de Tukey (p<0,05), teste de Sidak (p<0,05) e Dunnet (p<0,05).

Fonte: dados obtidos na pesquisa.

Tabela 4 – Dados referentes ao teor de compostos fenólicos totais, flavonoides, açúcares totais e redutores das bebidas analisadas.

Minutos	Fenólicos totais (mg GAE L ⁻¹)		Flavonoides (mg Rutin L ⁻¹)		Açúcares totais (mg Glc L ⁻¹)		Açúcares redutores (mg Glc L ⁻¹)	
	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C
15	1861,50 ± 99,50 ^{g,*}	1480,50 ± 6,50 ^g	274,90 ± 6,12 ^e	279,27 ± 1,42 ^{ef}	3,15 ± 0,15 ^{h,*}	2,81 ± 0,08 ⁱ	1,07 ± 0,03 ^{i,*}	0,77 ± 0,02 ^h
30	2024,80 ± 145,80 ^{fg,*}	1629,00 ± 2,00 ^f	294,30 ± 0,69 ^{bcd,*}	275,67 ± 6,52 ^g	3,44 ± 0,15 ^{g,*}	3,11 ± 0,01 ^h	1,15 ± 0,02 ^{h,*}	0,80 ± 0,02 ^{gh}
45	2468,00 ± 95,00 ^{e,*}	1828,33 ± 15,28 ^e	293,60 ± 1,67 ^{cd}	293,00 ± 1,95 ^{de}	3,55 ± 0,02 ^{g,*}	3,31 ± 0,02 ^{gh}	1,23 ± 0,03 ^{g,*}	0,86 ± 0,02 ^g
60	2153,00 ± 19,00 ^{f,*}	1527,70 ± 12,11 ^{fg}	293,30 ± 2,52 ^{cd}	291,17 ± 2,47 ^{def}	3,86 ± 0,03 ^{f,*}	3,33 ± 0,08 ^{gh}	1,29 ± 0,01 ^{f,*}	0,96 ± 0,02 ^f
90	2756,50 ± 27,50 ^{cd,*}	1597,10 ± 39,05 ^f	290,33 ± 1,70 ^d	292,30 ± 0,61 ^{de}	4,48 ± 0,03 ^{e,*}	3,58 ± 0,22 ^g	1,43 ± 0,02 ^{e,*}	0,96 ± 0,01 ^f
120	2643,85 ± 82,15 ^{de,*}	1560,00 ± 14,01 ^{fg}	293,30 ± 1,05 ^{cd}	301,67 ± 2,28 ^{cd}	4,78 ± 0,05 ^{d,*}	3,93 ± 0,12 ^f	1,44 ± 0,01 ^{de,*}	0,99 ± 0,02 ^f
180	3016,50 ± 34,50 ^{ab,*}	1909,42 ± 3,77 ^{de}	302,03 ± 1,70 ^{abc}	297,37 ± 4,50 ^{cd}	5,12 ± 0,13 ^{c,*}	4,18 ± 0,09 ^{ef}	1,50 ± 0,05 ^{cd,*}	1,08 ± 0,01 ^e
240	2806,00 ± 68,00 ^{bcd,*}	1975,60 ± 15,07 ^{cd}	294,53 ± 2,15 ^{bcd}	306,47 ± 2,97 ^{cd}	5,33 ± 0,12 ^{c,*}	4,42 ± 0,08 ^{de}	1,53 ± 0,01 ^{c,*}	1,09 ± 0,04 ^d
360	3066,33 ± 57,84 ^{a,*}	2061,10 ± 5,31 ^c	296,50 ± 2,69 ^{abcd}	307,47 ± 2,61 ^{bcd}	5,59 ± 0,04 ^{b,*}	4,67 ± 0,03 ^{cd}	1,53 ± 0,01 ^{c,*}	1,28 ± 0,02 ^{cd}
480	2433,99 ± 5,34 ^{e,*}	2270,70 ± 32,62 ^b	297,13 ± 3,98 ^{abcd,*}	313,60 ± 13,80 ^{bc}	5,64 ± 0,08 ^{b,*}	4,85 ± 0,03 ^b	1,55 ± 0,03 ^{bc,*}	1,32 ± 0,02 ^{bc}
720	2885,33 ± 58,69 ^{abc,*,#}	2533,30 ± 48,85 ^{a,#}	304,73 ± 1,53 ^a	395,27 ± 2,47 ^a	6,03 ± 0,02 ^{a,*,#}	4,85 ± 0,08 ^{bc,#}	1,65 ± 0,03 ^{a,*,#}	1,28 ± 0,02 ^{b,#}
1440	3038,67 ± 46,50 ^{a,*,#}	2580,40 ± 107,40 ^{a,#}	302,60 ± 4,81 ^{ab,*}	323,27 ± 8,54 ^b	5,94 ± 0,07 ^{a,*,#}	5,45 ± 0,10 ^{a,#}	1,59 ± 0,01 ^{ab,*,#}	1,46 ± 0,01 ^{a,#}
Controle	1979,46 ± 60,55		317,40 ± 11,90		3,57 ± 0,09		0,64 ± 0,01	

*Letras diferentes apresentam diferença estatística entre os tempos de extração (linhas), asterisco indica diferença estatística entre os ensaios (colunas) e cerquilha indica diferença significativa entre o valor comparado ao controle (aplicado somente aos tempos de 720 e 1440 minutos) por meio do teste de Tukey (p<0,05), teste de Sidak (p<0,05) e Dunnet (p<0,05).

Fonte: dados da pesquisa.

A extração a temperatura ambiente apresentou um caráter ácido, com um significativo teor de compostos fenólicos e flavonoides no tempo de 720 minutos (12 horas). Já extração a temperatura refrigerada, o teor de fenólicos presentes nas amostras foi inferior, mas similar em todos os outros quesitos analisados. Ambas as extrações revelaram um alto teor de compostos antioxidantes e teor de cafeína no tempo de 1440 min ou 24 horas. Como consequência, os atributos físico-químicos da bebida não apresentam diferenças significativas entre o tempo de 12 e 24 horas, todavia, para que a bebida tenha um maior valor bioativo/funcional, o tempo de extração deve ser de 24 horas. Embora se haja um marketing de que a diferença entre o *cold brew* e bebida quente esteja na acidez e concentração de cafeína, o presente trabalho indica que as medidas de pH são comparáveis entre si, enquanto as bebidas geladas detêm maior teor de acidez e cafeína. Quando a variação de extração é analisada, tem-se que as análises tiveram resultados satisfatórios quanto ao coeficiente de variação, explícito na Tabela 5, indicando uma precisão no trabalho.

Tabela 5 – Dados dos coeficientes de variação para avaliação das repetições das extrações feitas.

Análise	C.V (%) Controle	C.V (%) ambiente	CV (%) Refrigerado
TDS	13,3	2,17	1,31
pH	0,11	0,56	0,50
Acidez	12,53	2,23	1,71
Cafeína*	-	-	-
Açúcares totais	2,63	6,63	1,04
Açúcares redutores	2,35	6,45	8,60
Fenólicos totais	1,49	3,47	5,10
Flavonoides	3,75	2,47	13,35
DPPH	4,08	3,10	9,66
FRAP	2,31	19,59	11,04

*A repetição da análise de cafeína não foi feita devido a problemas instrumentais.

Fonte: autoria própria

A pesquisa se soma aos poucos trabalhos da literatura do *cold brew*, especialmente no Brasil. Além disso, elucida a respeito da cinética dos compostos físico-químicos e fitoquímicos do café gelado preparado em temperatura ambiente ou refrigerada.

5.2. Proposta de aulas

5.2.1. Aula sobre polifenóis totais destinada ao ensino médio

Considerando que grande parte das escolas de ensino básico não dispõe da infraestrutura de laboratório de Química, teve-se o objetivo de desenvolver uma aula experimental de baixo custo e sem a necessidade do uso de laboratório adaptando o método

de Singleton e Rossi (1965). Os reagentes utilizados nessa análise qualitativa são: o reagente folin-cicalteu (FC) de custo aproximado de R\$ 80,00 por 100 mL e o carbonato de sódio no valor de R\$ 35,00 por 500 g. Para preparar as soluções é necessário diluir o reagente FC para 10% (v/v) e dissolver o carbonato de sódio a 7,5% (m/v), implicando em um bom rendimento desses reagentes, podendo ser executado 2000 análises qualitativas.

A execução do experimento é baseada na reação entre o FC e os polifenóis presente na bebida em meio básico. Faz-se necessário o uso do carbonato de sódio para que faça um tamponamento do pH. Dilui-se a amostra e faz a mistura entre os reagentes na proporção amostra: folin: carbonato de sódio (1:5:4). Quanto mais a coloração da reação for azulada, maior a presença de polifenóis na bebida. Plano de aula e roteiro experimental a respeito dessa aula podem ser visualizado no apêndice A e B, respectivamente.

5.2.2. Aula sobre quantificação de cafeína em bebidas.

Com um objetivo de uma aula para o ensino médio integrado de Química na disciplina de química analítica, a determinação da cafeína via uv-vis em bebidas foi baseada pelo método de Habtamu e Belay (2020). Para isso, é necessário um espectrofotômetro uv-vis e cafeína P.A para se fazer uma curva de calibração. Essa etapa de curva de calibração, recomenda-se que seja feita pelo docente ou técnico do laboratório, uma vez que se faz necessário maior conhecimento matemático e computacional.

Aplicada as mais distintas bebidas que contenha cafeína, faz-se a diluição dessa bebida para que a absorvância se encontre no limite de detecção da curva de calibração previamente preparada. Em seguida, faz-se a leitura na concentração adequada em espectrofotômetro e os devidos cálculos para a expressão dos resultados em mg de cafeína por litro de bebida.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho relatou que todas as infusões eram consideravelmente ácidas e detinham concentrações de compostos bioativos. A dependência do tempo e temperatura de infusão para o preparo do *cold brew*, demonstrou algumas diferenças nas análises, todavia, estáveis no tempo de 720 minutos ou 12 horas. O *cold brew* preparado em geladeira ou em temperatura ambiente, de um dia para o outro possui propriedades físico-químicas levemente semelhantes quanto a acidez, pH e TDS, e diferentes para açúcares, fenólicos totais, flavonoides totais e cafeína. As características físico-químicas demonstraram estabilidade após 360 minutos (6 horas), mas no quesito fitoquímico a estabilidade levou mais horas a ser atingida, necessitando de um tempo de extração de aproximadamente de 12 horas. A capacidade antioxidante da bebida extraída a temperatura ambiente no tempo de 12h foi maior pelo método FRAP enquanto a bebida extraída a temperatura refrigerada foi maior pelo método DPPH. Não houve diferença estatística entre as bebidas no tempo de 24h pelos dois métodos. Em relação ao método tradicional, as extrações de 12h e 24h tiveram diferenças nas características físico-química, todavia capacidade antioxidantes e teor de flavonoides semelhantes.

6.1. Sugestões para trabalhos futuros

Para ampliar os conhecimentos a respeito do café gelado, é interessante a realização de trabalhos que façam comparações de cinéticas com grãos oriundos de diferentes regiões brasileiras e preparados de diferentes modos (prensa francesa e decocção), bem como um estudo de identificação e quantificação dos compostos fenólicos nos diferentes tipos de extrações para elucidar seu comportamento frente a capacidade antioxidante e outras atividades biológicas.

6.2. Trabalhos apresentados ou publicados

Uma breve parte do trabalho foi apresentado na categoria "Pôster" no 14º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos - SLACA: "Impacto da Ciência de Alimentos na Saúde e na Doença", intitulado "Avaliação de compostos fitoquímicos na bebida *cold brew*" realizado de 12 a 14 de dezembro de 2021, no formato online.

7 REFERÊNCIAS

- ABIC. **Tendências do Mercado de Cafés em 2017**. ENCAFE. 2017.
- ABREU, E.S.; MEDEIROS, G.M. de; SPINELLI, M.G.N. **Fitoquímicos: substâncias protetoras em alimentos**. 2004.
- ALMEIDA, T., MAI, B., PUGET, F. Extração de tanino condensado da casca do café Conilon e uso deste como coagulante para remoção de turbidez da água. **Enciclopédia Biosfera**. 13. (2016).
- ALVES, R. C.; CASAL, S.; OLIVEIRA, B. Benefícios do café na saúde: mito ou realidade?. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 8, p. 2169-2180, 2009.
- ANDERSON, K. A., e SMITH, B. W. (2002). Chemical Profiling To Differentiate Geographic Growing Origins of Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(7), 2068–2075.
- ANDUEZA, S.; MAEZTU, L.; PASCUAL, L.; IBÁÑEZ, C. et al. Influence of extraction temperature on the final quality of espresso coffee. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 83, n. 3, p. 240-248, 2003/02/01 2003. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1304>.
- ANGELONI, G. et al. Characterization and comparison of *cold brew* and cold drip coffee extraction methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99, n. 1, p. 391-399, 2019/01/15 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9200>.
- ARYA, M., RAO, L. J. M. An Impression of Coffee Carbohydrates. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47(1), 51–67. 2007.
- BELL, L. N.; WETZEL, C. R.; GRAND, A. N. Caffeine content in coffee as influenced by grinding and brewing techniques. **Food Research International**, 29, n. 8, p. 785-789, 1996/12/01/ 1996.
- BILGE, G. Investigating the effects of geographical origin, roasting degree, particle size and brewing method on the physicochemical and spectral properties of Arabica coffee by PCA analysis. **Journal of Food Science and Technology**, 57, n. 9, p. 3345-3354, 2020/09/01 2020.
- BORRELLI, Rosa Cinzia et al. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6527-6533, 2002.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995/01/01/ 1995.
- BROADHURST, R. B.; JONES, W. T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 29, n. 9, p. 788-794, 1978.
- BROWN, N. **New US Coffee Shop Growth Slows as RTD and Cold Brew Accelerate, According to Mintel**. *Roast Magazine*, Available at: <https://dailycoffeenews.com/2017/10/03/new-us-coffee-shop-growth-slows-as-rtd-and-cold-brew-accelerate-according-to-mintel/>. Acessado em 27 de julho de 2021.

CASTELLANOS, F. X.; RAPOPORT, J. L. Effects of caffeine on development and behavior in infancy and childhood: a review of the published literature. **Food Chem Toxicol**, 40, n. 9, p. 1235-1242, Sep 2002.

CASQUETE, R. et al. Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 31, p. 37-44, 2015/10/01/ 2015.

CHASSOT, A. J. R. b. d. e. **Alfabetização científica: uma possibilidade para a inclusão social**. p. 89-100, 2003.

CHOUDHARI, S. K.; CHAUDHARY, M.; GADBAIL, A. R.; SHARMA, A. et al. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: A review. **Oral Oncology**, 50, n. 1, p. 10-18, 2014/01/01/ 2014.

CÖMERT, E. D.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Relationship between color and antioxidant capacity of fruits and vegetables. **Current Research in Food Science**, 2, p. 1-10, 2020/06/01/ 2020.

COSMO, B. M. N., GALERIANI, T. M. **Determinação de cinzas em amostras de beterraba, capim elefante e farinha de peixe**. Revista Científica Semana Acadêmica. Fortaleza, ano MMXVII, Nº. 000113, 13/10/2017.

CORDOBA, N.; FERNANDEZ-ALDUENDA, M.; MORENO, F. L.; RUIZ, Y. Coffee extraction: A review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews. **Trends in Food Science & Technology**, 96, p. 45-60, 2020/02 2020.

COFFÉ, H. Do individual factors explain the different success of the two Belgian extreme right parties. **Acta Política**, 40, n. 1, p. 74-93, 2005.

CRUZ, R.; MORAIS, S.; CASAL, S. Chapter 66 - Mineral Composition Variability of Coffees: A Result of Processing and Production. In: **PREEDY, V. (Ed.). Processing and Impact on Active Components in Food**. San Diego: Academic Press, 2015. p.549-558.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química nova**, 22, p. 209-217, 1999.

DE MARIA, C. A.; MOREIRA, R. F. J. Q. N. **Cafeína: revisão sobre métodos de análise**. 30, p. 99-105, 2007.

ECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2.ed. Campinas: Editora UNICAMP, 2003. 207p.

FASSIO, L. H.; DA SILVA, A. E. S. **Importância econômica e social o café Conilon**. 2015.

FELTES, M.M. C; et al. **Procedimentos operacionais padronizados de bromatologia de alimentos**. Instituto Federal Catarinense, Blumenau, 2016.

FERRUZZI, M. G. The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea. **Physiology & behavior**, v. 100, n. 1, p. 33-41, 2010.

FRANCISQUINI, J. D. A.; MARTINS, E.; SILVA, P. H. F.; SCHUCK, P. *et al.* Reação de maillard: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 72, n. 1, p. 48-57, 2017.

FUJIOKA, K.; SHIBAMOTO, T. Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees. **Food Chemistry**, 106, n. 1, p. 217-221, 2008/01/01/ 2008.

FULLER, M.; RAO, N. Z. The Effect of Time, Roasting Temperature, and Grind Size on Caffeine and Chlorogenic Acid Concentrations in *Cold Brew* Coffee. **Scientific Reports**, 7, n. 1, p. 17979, 2017/12/21 2017.

IAL - **Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos 4. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz: 2008.

KAMIYAMA M.; MOON J.K.; JANG H.W.; SHIBAMOTO T. Role of degradation products of chlorogenic acid in the antioxidant activity of roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2015.

KUČERA, L.; PAPOUŠEK, R.; KURKA, O.; BARTÁK, P.; e BEDNÁŘ, P. (2016). Study of composition of espresso coffee prepared from various roast degrees of *Coffea arabica* L. coffee beans. **Food Chemistry**, 199, 727–735.

GLOESS, A. N.; SCHÖNBÄCHLER, B.; KLOPPROGGE, B.; D'AMBROSIO, L. *et al.* Comparison of nine common coffee extraction methods: instrumental and sensory analysis. **European Food Research and Technology**, 236, n. 4, p. 607-627, 2013/04/01 2013.

HABTAMU, D.; BELAY, A. First order derivative spectra to determine caffeine and chlorogenic acids in defective and nondefective coffee beans. **Food Science & Nutrition**, 8, n. 9, p. 4757-4762, 2020/09/01 2020. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1723>.

KANG, D.-E.; LEE, H.-U.; DAVAATSEREN, M.; CHUNG, M.-S. Comparison of acrylamide and furan concentrations, antioxidant activities, and volatile profiles in cold or hot brew coffees. **Food science and biotechnology**, 29, n. 1, p. 141-148, 2019.

LANE, S.; PALMER, J.; CHRISTIE, B.; EHLTING, J. *et al.* Can *Cold Brew* Coffee Be Convenient? A Pilot Study For Caffeine Content in *Cold Brew* Coffee Concentrate Using High Performance Liquid Chromatography. **The Arbutus Review**, 8, p. 15-23, 10/30 2017.

LESSA, M; **Classificação físico-química de cafés comerciais por análise exploratória**. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, MG: 2014.

LIMA, T. M. C.; **Qualidade e compostos bioativos de frutos de umbuzeiro cultivados sob o sistema orgânico e convencional**. 2016. (Graduação- Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.

LOPES, Guido R. *et al.* Impact of microwave-assisted extraction on roasted coffee carbohydrates, caffeine, chlorogenic acids and coloured compounds. **Food Research International**, v. 129, p. 108864, 2020.

LUDWIG, I. A., *et al.* Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. **Food Research International**, 48(1), 57–64. 2012

MALDONADE, I. R.; DE CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. **EMBRAPA** hortaliças. 2013.

MARTINI, Daniela et al. Coffee consumption and oxidative stress: a review of human intervention studies. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 979, 2016.

MESTDAGH, F.; GLASBANIA, A.; GIULIANO, P. The Brew. Extracting for Excellence. **Folmer (Ed.), The Craft and Science of Coffee**, Academic Press, p. 355-380, 2017.

MILLER, G. L.. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MORAIS, M. L.; SILVA, A. C.; ARAUJO, C. R.; ESTEVES, E. A. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura [online]**. 2, 35, p. 355-360, 2013.

MONTEIRO, M.; et al. Influência da torra sobre a aceitação da bebida café. **Rev. Ceres [online]**. 2010, vol.57, n.2, pp.145-150.

MORETTO, E. **Introdução à ciência de alimentos**. 2.ed. Ampliada e revisada. Florianópolis: Editora da UFSC, 2008. 255p.

MONTEIRO, M. C. TRUGO, L. C.. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova [online]**. 2005, v. 28, n. pp. 637-641.

MORTIMER, E. F., MACHADO, A. H. e ROMANELLI, L. I. A proposta curricular de química do Estado de Minas Gerais: fundamentos e pressupostos. **Química Nova [online]**. 2000, v. 23, n. 2. pp. 273-283

MUZYKIEWICZ-SZYMAŃSKA, A.; NOWAK, A.; WIRA, D.; KLIMOWICZ, A. The Effect of Brewing Process Parameters on Antioxidant Activity and Caffeine Content in Infusions of Roasted and Unroasted Arabica Coffee Beans Originated from Different Countries. **Molecules**, 26, n. 12, 2021.

(OIC), I. C. O. **World coffee consumption**. 2021 2021. Disponível em: https://www.ico.org/pt/trade_statistics.asp. Acesso em: 16 de julho de 2021.

PETRACCO, M. Chapter 7 - Technology IV: beverage preparation: brewing trends for the new millennium. In *Coffee-recent development* (eds Ronald, C. & Vitzthum, O. G.) 140–164, 2001.

PINTAĆ, Diandra et al. Comparison study between popular brands of coffee, tea and red wine regarding polyphenols content and antioxidant activity. **Food Chemistry Advances**, v. 1, p. 100030, 2022.

PONTE, S. The latte revolution? Regulation, markets and consumption in the global coffee chain. **World development**, 30, n. 7, p. 1099-1122, 2002.

POOLE, R.; KENNEDY, O. J.; RODERICK, P.; FALLOWFIELD, J. A. et al. Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes. **BMJ**, 359, p. j5024, 2017.

PUERTA, G. I. Composición química de una taza de café. Centro Nacional de Investigaciones de Café (**Cenicafé**), 2013.

RAO, N. Z.; FULLER, M. Acidity and Antioxidant Activity of *Cold Brew* Coffee. **Scientific Reports**, 8, n. 1, p. 16030, 2018/10/30 2018.

RAO, N. Z.; FULLER, M.; GRIM, M. D. Physiochemical Characteristics of Hot and *Cold Brew* Coffee Chemistry: The Effects of Roast Level and Brewing Temperature on Compound Extraction. **Foods (Basel, Switzerland)**, 9, n. 7, p. 902, 2020.

RUFINO, M. d. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. d.; MORAIS, S. M. d. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.**, 2006.

RUFINO, M. d. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. d.; MORAIS, S. M. d. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007.**, 2008.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999/05/01/ 1999.

RODRIGUES, R. C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos** – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

SCHIEBER, A. Reactions of quinones—Mechanisms, structures, and prospects for food research. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 50, p. 13051-13055, 2018.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C. M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 4, p. 1212-1220, 2007.

SILVA, L. L., **Análise fitoquímica e determinação das atividades antioxidantes e vasculogênica dos extratos aquosos padronizados de Coffea arabica e Theobroma cacao**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina.

SILVA, M. C. da et al. Caracterização química e sensorial de cafés da chapada de minas, visando determinar a qualidade final do café de alguns municípios produtores. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1782-1787, 2009.

SIVETZ, M.; DESROSIER, N. W. **Physical and chemical aspects of coffee**. Coffe technology, Westport, p. 527-575, 1979.

SOUSA, F.A., **Avaliação de polifenóis e atividade antioxidantes do café arábica – Coffea arábica**. Monografia, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira. Redenção, 2017.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, n. 3, p.

144, 1965.

SMITH, A. Effects of caffeine on human behavior. **Food Chem Toxicol**, 40, n. 9, p. 1243-1255, Sep 2002.

TIMES, T. N. Y. **How To Make Cold Brew Coffee at Home**. Disponível em: <https://cooking.nytimes.com/recipes/1017355-cold-brewed-iced-coffee>. Acesso em: 16 de julho.

TORRES, E.A.F. S, Alimentos do Milênio – A importância dos Transgênicos, Funcionais e Fitoterápicos, Funcionais para a Saúde. 1 ed. São Paulo, SP: Editora Signus, 2011.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 39, n. 1, p. 44-84, 2007/01/01/ 2007.

VIGNOLI, Josiane Alessandra et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. **Food Research International**, v. 61, p. 279-285, 2014.

YASHIN, Alexander et al. Antioxidant and antiradical activity of coffee. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 230-245, 2013.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 64, n. 4, p. 555-559, 1999/03/01/ 1999.

8 APENDICE A – PLANO DE AULA DO TEMA FITOQUÍMICOS

PLANO DE AULA			
Escola: IFB - Campus Gama			
Componente Curricular: Química		Data da Aula: __/__/__	
Professor:		Duração da Aula: 100 minutos	
TEMA: Fitoquímicos			
OBJETIVOS			
GERAL: Compreender e estimar o teor de polifenóis em bebidas			
ESPECÍFICOS: Desenvolver noção de laboratório. Identificar os grupos funcionais dos polifenóis; Compreender como se quantifica os compostos fenólicos; Conectar o conteúdo didático com o cotidiano; Refletir a respeito da química dos alimentos.			
CONTEÚDO:			
Conceitos básicos: polifenóis, bioatividade e alimentação saudável.			
METODOLOGIA:			
Aula expositiva-interativa, discussão em sala sobre o conteúdo e execução experimental			
Duração	Atividade	Habilidade	Competência
5 min	Apresentação do professor sobre o conteúdo.	-	-
5 min	Conversação a respeito dos conhecimentos prévios dos alunos sobre os polifenóis.	-	Compartilhar conhecimentos prévios a respeito do assunto.
20 min	Explicação sobre as propriedades dos polifenóis e seus grupos funcionais.	Entender como se caracteriza um composto fenólico	Compreender as propriedades do composto e identificar seus grupos funcionais.
20 min	Discorrer sobre os subgrupos dos compostos fenólicos.	Assimilar os grupos funcionais e as características de cada subgrupo.	Diferenciar os grupos funcionais e suas características.

5 min	Explicar a reação envolvida entre o reagente de Folin-Ciocalteu e os polifenóis.	Entender como se dá a reação entre os reagentes químicos.	Compreender o princípio da técnica colorimétrica utilizada.
5 min	Esclarecer a execução do experimento.	-	Justificar como acontece a determinação desses compostos bioativos.
30 min	Execução do experimento.	-	Compreender a diferença no teor desse composto em alimentos industrializados e <i>in natura</i>
10 min	Questionamentos e discussão a respeito do conteúdo exposto	-	Fixar e refletir a respeito dos polifenóis e seu benefício à saúde.
RECURSOS:			
Computador, internet, slides, reagente folin-ciocalteu, carbonato de sódio, bebidas ou frutas			
AVALIAÇÃO:			
A avaliação contará com participação em aula.			
REFERÊNCIAS:			
<ul style="list-style-type: none"> • Básica: SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, n. 3, p. 144, 1965. 			

9 APENDICE B – ROTEIRO EXPERIMENTAL DA AULA DE FITOQUÍMICOS

ANÁLISE:
Fenólicos totais (qualitativa)
Princípio
A reação envolvida entre o reagente de folin-ciocalteu com o grupo hidroxila dos compostos fenólicos, ocorrendo em meio básico. Consiste na adição de um volume de amostra líquida, seguida da adição do reagente F-C diluído a 10% e um tampão, sendo o mais recomendado o carbonato de sódio a 7,5%. Haverá alteração da coloração para um azul forte, quanto mais a coloração estiver azulada, mais polifenóis há na amostra.
Importância
Os compostos fenólicos estão associados a diversos benefícios fisiológicos, sendo recomendado a sua ingestão.
Materiais e equipamentos
<ul style="list-style-type: none">• Copo transparente• Amostras de sucos ou outras bebidas como chá, café, refrigerante, etc.• Seringas• Pisseta com água
Reagentes e soluções
<ul style="list-style-type: none">• Carbonato de sódio 7,5%• Reagente Folin 10%
Preparo da amostra
Coloque 1 mL da amostra em um copo, em seguida, adicione mais 9 mL de água.
Procedimento de análise
Pegue 1 mL da amostra diluída, adicione 5 mL de folin 10% e agite vigorosamente. Adicione 4 mL de Carbonato de sódio 7,5% e agite. Aguarde cerca de 5 minutos. Obs: O reagente Folin-Ciocalteu é sensível à luz, recomenda-se a execução desse experimento em abrigo de luz.
Referências bibliográficas
<ul style="list-style-type: none">• SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, n. 3, p. 144, 1965.

10 APENDICE C – PLANO DE AULA SOBRE DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA

PLANO DE AULA			
Escola: IFB - Campus Gama			
Componente Curricular: Lab de química analítica EMI Química Data da Aula: __/__/__			
Professor:		Duração da Aula: 150 minutos	
TEMA: Cafeína			
OBJETIVO:			
GERAL: Determinar o teor de cafeína em bebidas.			
ESPECÍFICOS: Desenvolver noção de laboratório. Aprender a respeito da técnica de espectroscopia uv-vis; Utilizar curva de calibração para quantificar uma substância. Compreender como se quantifica esse alcalóide; Conectar o conteúdo didático com o cotidiano; Refletir a respeito da química dos alimentos.			
CONTEÚDO:			
Conceitos básicos: espectroscopia uv-vis, diluição, preparo de amostra,			
METODOLOGIA:			
Aula de execução experimental em laboratório.			
Duração	Atividade	Habilidade	Competência
5 min	Apresentação do professor sobre o conteúdo.	-	-
5 min	Conversação a respeito dos conhecimentos prévios dos alunos sobre os espectroscopia uv-vis	-	Compartilhar conhecimentos prévios a respeito do assunto.
20 min	Explicação sobre espectroscopia uv-vis	Entender como é feita uma análise espectroscópica	Compreender as implicações da análise quantitativa.
10 min	Discorrer sobre o método utilizado e explicar como foi obtida a curva de calibração.	Assimilar como é obtida a curva de calibração e o método é feito.	Narrar com acontece a técnica utilizada.

10 min	Esclarecer a execução do experimento.	-	Descrever como se acontece a determinação da cafeína.
80 min	Execução do experimento.	-	Executar o experimento conforme as instruções.
10 min	Questionamentos e discussão a respeito do conteúdo exposto	-	Fixar e refletir a respeito dos conteúdo de cafeína presente nas bebidas.
10 min	Execução dos cálculos e explicação de como deve ser feito o relatório.	-	-
RECURSOS:			
Computador, internet, espectrofotômetro uv-vis, quadro branco e bebidas diversas.			
AVALIAÇÃO:			
A avaliação contará com participação em aula e relatório.			
REFERÊNCIAS:			
<ul style="list-style-type: none"> • Básica: HABTAMU, D.; BELAY, A. First order derivative spectra to determine caffeine and chlorogenic acids in defective and non defective coffee beans. Food Science & Nutrition, 8, n. 9, p. 4757-4762, 2020/09/01 2020. https://doi.org/10.1002/fsn3.1723. 			

11 APENDICE D – ROTEIRO EXPERIMENTAL SOBRE DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA

ANÁLISE:
Quantificação de cafeína em bebidas industrializadas
Princípio
Baseada em espectroscopia uv-vis, faz uma varredura, do padrão de cafeína em 5 ou mais distintas concentrações, para a obtenção do melhor comprimento de onda para a determinação do composto, sendo aproximadamente em 274 nm. Em seguida, deriva-se os espectros obtidos e utiliza-se da técnica de medição "base-para-pico" através das curvas, gerando uma curva de calibração de primeira ordem. Efetua-se as leituras das amostras diluídas nesse comprimento de onda e através da curva de calibração expressa-se os resultados em miligramas de cafeína por litro de café (mg CAF L ⁻¹).
Importância
A determinação da cafeína é um parâmetro importante para a alimentação humana, uma vez que esse composto é um estimulante e detém toxicidade quando ingerido em excesso.
Materiais e equipamentos
<ul style="list-style-type: none">• Espectrofotômetro uv-vis• Cubeta de vidro• Pisseta com água destilada• Bebidas (café, refrigerante, chá, energético, etc)• Pipeta graduadas• Béqueres• Pipeta pasteur• Pipetador• Banho ultrassom
Reagentes e soluções
Não se aplica para a aula. Mas para o docente preparar a curva de calibração, necessita da cafeína P.A
Preparo da amostra
Bebidas gaseificadas necessitam passar pelo ultrassom para que sejam desgaseificadas, adicione em um béquer cerca de 50 mL do volume da bebida e deixe em banho ultrassom por 30 minutos ou mais. Efetue a diluição da amostra em água, recomenda-se 1:10. Caso a leitura da absorbância fique acima de 1,0, aumenta-se o fator de diluição para que se encontre dentro da faixa da curva de calibração.

Em um balão volumétrico de 10 mL, pipete 1 mL da amostra e complete o volume utilizando água destilada. Anote o fator de diluição utilizado.

Procedimento de análise

Leve ao espectrofotômetro, faça a leitura no comprimento de onda indicado pelo docente.
Anote a absorbância obtida.

Obs: cuidado com a cubeta, faça o manuseamento com bastante cuidado e sempre tocando na parte fosca.

Pontos a serem discutidos nos resultados

Através da curva de calibração, determine a concentração da cafeína na solução. Através do fator de diluição, determine a concentração de cafeína na bebida analisada. Compare os resultados obtidos com o rótulo do produto.

Referências bibliográficas

HABTAMU, D.; BELAY, A. First order derivative spectra to determine caffeine and chlorogenic acids in defective and non defective coffee beans. Food Science & Nutrition, 8, n. 9, p. 4757-4762, 2020/09/01 2020. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1723>.