

MATHEUS SIQUEIRA BARRETO

**MÉTODO ANALÍTICO INOVADOR PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado Profissional em Química em Rede Nacional, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

B273m Barreto, Matheus Siqueira, 1990-
2019 Método analítico inovador para determinação de compostos
fenólicos e atividade antioxidante do café / Matheus Siqueira
Barreto. – Viçosa, MG, 2019.
55 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 48-54.

1. Polifenóis. 2. Café. 3. Antioxidantes. 4. Smartphones.
5. Processamento de imagens - Técnicas digitais.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Química em Rede Nacional.
II. Título.

CDD 22. ed. 547.632

MATHEUS SIQUEIRA BARRETO

**MÉTODO ANALÍTICO INOVADOR PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado Profissional em Química em Rede Nacional, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 08 de junho de 2019.


Cristiane Isaac Cerceau


Daiane Einhardt Blank


Antônio Jacinto Demuner
(Coorientador)


Marcelo Henrique dos Santos
(Orientador)

A Deus, meus familiares, amigos e
professores... companheiros de todas as
horas...

AGRADECIMENTOS

A Deus, por minha vida, por me dar oportunidades e força para conquistar meus objetivos.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

À minha esposa, Rayane, pelo carinho, apoio incondicional e amor.

Às minhas filhas, Isabella e Maísa, pelo amor e apoio sem limites.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de estar cursando este mestrado.

Aos professores Marcelo Henrique dos Santos e Antônio Jacinto Demuner, pela orientação, apoio e confiança.

À Daiane e à Cristiane, por todo apoio e dedicação em me ajudar neste trabalho.

Ao professor Efraim Lázaro Reis, coordenador do curso, pelo carinho e dedicação em auxiliar todos os alunos.

À EEEFM Juvenal Nolasco por possibilitar que o projeto fosse aplicado em uma de suas turmas de ensino.

À CAPES pela concessão de bolsa de apoio.

RESUMO

BARRETO, Matheus Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2019. **Método analítico inovador para determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante do café.** Orientador: Marcelo Henrique dos Santos. Coorientador: Antônio Jacinto Demuner.

A possibilidade de uso de telefone celular para determinação de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em amostras de *Coffea arabica*, empregando-se imagens digitais foi confirmada. O método é acessível, relativamente rápido e reprodutível. Este trabalho descreve a análise colorimétrica/espectrofotométrica de compostos fenólicos e poder redutor em amostras de *Coffea arabica*, foi baseada na reação de oxirredução, utilizando oxidante cloreto férrico (FeCl_3) e ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), as medidas foram realizadas pelo uso de imagens digitais, a partir do aplicativo PhotoMetrix®, em ambiente de luz controlada. Foi verificado o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante do café, em diferentes estádios de maturação e graus de torrefação. O teor de compostos fenólicos foi na faixa de 0 a 30 mg L^{-1} , utilizando a quercetina como padrão. Já para determinar o poder redutor foi utilizada a faixa linear de 0,0 a 1 mg L^{-1} , e o padrão hidroxitolueno butilado (BHT). Teste estatísticos comprovaram a similaridade entre o método desenvolvido e o tradicional método de espectrofotometria no UV-Vis com 95% de confiança. O método inovador para análise de fenólicos totais e poder redutor é satisfatório, sendo uma alternativa viável e importante para determinar compostos bioativos e atividade antioxidante em espécies vegetais. É um método útil para laboratórios com limitações de recursos financeiros, analíticos, com finalidade de contribuir com a química verde e podendo ser utilizado como tema gerador no ensino de Química no ensino médio.

Palavras chave: café, antioxidante, polifenóis, imagem digital, smartphone.

ABSTRACT

BARRETO, Matheus Siqueira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June 2019. **Innovative analytical method for determination of phenolic compounds and antioxidant activity of coffee.** Adviser: Marcelo Henrique dos Santos. Co-adviser: Antônio Jacinto Demuner.

The possibility of using cell phones to determine phenolic compounds and antioxidant activity in *Coffea arabica* samples using digital images was confirmed. The method is accessible, relatively fast and reproducible. This work describes the colorimetric/spectrophotometric analysis of phenolic compounds and reducing power in *Coffea arabica* samples, based on the oxidation reaction using ferric chloride (FeCl_3) and potassium ferricyanide ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), measurements were performed using digital images from the PhotoMetrix® application in a controlled light environment. It was verified the phenolic compounds content and antioxidant activity of the coffee, in different stages of maturation and degrees of roasting. The content of phenolic compounds was in the range of 0 to 30 mg L⁻¹, using quercetin as standard. The linear range of 0,0 to 1 mg L⁻¹ and the standard butylated hydroxytoluene (BHT) were used to determine the reducing power. Statistical tests proved the similarity between the developed method and the traditional spectrophotometry method in UV-Vis with 95% confidence. The innovative method for analysis of total phenolic and reducing power is satisfactory, being a viable and important alternative to determine bioactive compounds and antioxidant activity in plant species. It is a useful method for laboratories with limited financial resources, analytical, with the purpose of contributing to green chemistry and can be used as a generating theme in the teaching of chemistry in high school.

Key words: coffee, antioxidant, polyphenols, digital image, smartphone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Coffea</i> spp.....	12
Figura 2 - Classificação do café	14
Figura 3 – Ciclo de maturação do grão de café.....	15
Figura 4 – Diferentes torragens dos grãos de café	15
Figura 5 – Grau de qualidade do sabor do café	16
Figura 6 - (A) Estrutura básica dos flavonóides e (B) Estrutura básica dos flavonóides com grupo carbonila no C-4.	18
Figura 7 – Principais classes dos flavonoides	19
Figura 8 - Estrutura do hidroxitolueno butilado (BHT)	20
Figura 9 - Equipamento utilizado para captação de imagens digitais.....	26
Figura 10 - Interior do equipamento de captação de imagens digitais	26
Figura 11 - Parte do aparelho onde se localiza as amostras para obtenção das imagens digitais.....	27
Figura 12 - Lâmpada utilizada para obtenção do led utilizado na iluminação do equipamento.....	27
Figura 13 - Imagem da placa de porcelana com as concentrações de quercetina de 5 a 30 mg L ⁻¹	32
Figura 14 - Curvas analíticas obtidas nos canais red (R), green (G) e blue (B) para o padrão quercetina.	33
Figura 15 - Curva analítica obtida no canal Green (G) para o padrão quercetina.	34
Figura 16 - Curva analítica do padrão quercetina obtida usando o espectrômetro UV-Vis.	34
Figura 17- Curvas analíticas obtida nos canais red (R), green (G) e blue (B) para o padrão BHT usando o aplicativo Photometrix®.....	35
Figura 18 - Curva analítica obtidas no canal green (G) para o padrão BHT usando o aplicativo Photometrix®.....	36
Figura 19 - Curva analítica para o padrão BHT obtida usando o espectrômetro UV-Vis.	36
Figura 20 - Grãos de café colhidos pelos alunos em diferentes estádios de maturação	45
Figura 21 – Preparação do extrato por parte dos alunos	46
Figura 22 - Cabine de coleta de imagem digital sendo utilizada pelos alunos	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrão quercetina em diferentes concentrações (mg L ⁻¹) e seus respectivos valores de intensidade de cor registrados nos canais RGB.	33
Tabela 2 - Padrão BHT em diferentes concentrações (mg L ⁻¹) e seus respectivos valores de intensidade de cor registrados nos canais RGB	35
Tabela 3 - Intensidades de cor obtidas nos canais RGB para os extratos de café (vermelho, amarelo e verde) usando o aplicativo Photometrix®.	38
Tabela 4 - Teor fenólicos totais no café vermelho determinados usando o App e o UV-Vis	38
Tabela 5 - Teor de fenólicos totais no café amarelo determinados usando o App e o UV-Vis	38
Tabela 6 - Teor de fenólicos totais no café verde determinados usando o App e o UV-Vis	38
Tabela 7 - Teor de compostos fenólicos totais no café de acordo com a torrefação.	39
Tabela 8 - Intensidades de cor obtidas nos canais RGB para os extratos de café submetidos ao processo de torrefação clara, média e escura usando o aplicativo Photometrix®.....	40
Tabela 9 - Valores obtidos da avaliação do poder redutor de café nos diferentes estádios de maturação	41
Tabela 10 - Intensidades de cores obtidas nos canais RGB pelo aplicativo Photometrix® nos extratos de café em diferentes níveis de maturação.....	41
Tabela 11 - Valores do poder redutor de acordo com a torrefação do grão de café.	43
Tabela 12 – Intensidades de cores obtidas nos canais RGB pelo aplicativo Photometrix® nos extratos de café submetidos aos diferentes níveis de torrefação	44

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	10
2 - OBJETIVOS	11
2.1 - Objetivo geral	11
2.2 - Objetivos específicos	11
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 - Café.....	12
3.2 - Compostos bioativos	16
3.3 - Compostos fenólicos	17
3.4 - Atividade antioxidante	20
3.5 - Determinação usando o aplicativo do celular	21
4 – METODOLOGIA.....	23
4.1 - Obtenção das amostras de café	23
4.2 - Extração	23
4.3 - Determinação de fenólicos totais	24
4.4 - Avaliação do poder redutor	24
4.5 - Montagem do aparato para a realização das medidas usando Photometrix® ..	25
4.6 - Aplicativo usado para coleta de dados.....	28
4.7 - Produtos Químicos.....	29
4.8 - Tratamento de Imagem Digital	29
4.9 – Aplicação do trabalho como tema gerador nas aulas de Química do ensino médio	30
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 - Imagens digitais com telefone celular para determinações colorimétricas.....	31
5.2 - Calibração Colorimétrica das Reações	32
5.3 - Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nos diferentes estádios de maturação do café.	37
5.4 - Influência da torrefação sobre o teor de fenólicos totais do café.	38
5.5 – Determinação do poder redutor nas amostras de café	40
5.6 - Aplicação do projeto como tema gerador no ensino médio.....	45
6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
7 - REFERÊNCIAS.....	48
8 - APÊNDICE.....	55
Apêndice A – Cabine coletora de dados.	55

1 – INTRODUÇÃO

O café é apontado como a bebida preparada mais consumida no Brasil e no mundo ocidental. No qual o Brasil é o país que mais produz e exporta e o segundo maior consumidor da bebida no mundo (BRASIL, 2018).

De acordo com o Informe Estatístico do Café, do Departamento do Café – Dcaf, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Mapa, a partir de 1997, com a criação do Consórcio Pesquisa Café, a evolução da cafeicultura se deu de forma bastante expressiva. A área de cultivo nesse ano era de 2,4 milhões de hectares, a produção de 18,9 milhões de sacas de 60 kg e a produtividade de 8,0 sacas/hectare, com o consumo per capita de 4,3 kg de café. Passados 17 anos, de acordo com o Levantamento de Safra da Companhia Nacional de Abastecimento – Conab, houve redução da área de cultivo para 1,9 milhões de hectares e, em 2014, o País produziu 45,3 milhões de sacas, com produtividade de 23,3 sacas/há (BRASIL, 2015). E o consumo per capita, nesse mesmo período, também de acordo com o Informe Estatístico, aumentou para 6,12 kg. Em nível mundial, segundo a Organização Internacional do Café – OIC, em 1997, a produção foi de 99,7 milhões de sacas de 60 kg e o Brasil participou com 19% desse mercado. Em 2014, como a produção mundial evoluiu para 141,4 milhões de sacas e, a brasileira, para 45,3 milhões de sacas, nossa participação aumentou para 32% do mercado mundial, com redução de aproximadamente 20% da área de cultivo (EMBRAPA, 2015).

Em sua composição química, o café apresenta alto teor de fenólicos, atribuídos ao seu potencial antioxidante. Esses compostos antioxidantes, como os polifenóis, são substâncias que se oxidam com facilidade, resultando em substâncias coradas. A cor desses produtos de oxidação deve-se ao elevado grau de conjugação.

Oxidantes como o cloreto férrico (FeCl_3), são empregados para caracterização de polifenóis, utilizando o BHT (hidroxitolueno butilado) como padrão para análise de compostos fenólicos e de antioxidantes em amostras de café em diferentes estágios de maturação e grau de torrefação.

Este assunto, é também uma forma de abordagem diferenciada para aulas de química no ensino médio. Em muitas regiões do país existem alunos de família de agricultores, diretamente ligados com o plantio de café, sendo assim, uma forma de contextualizar com suas realidades, o que é indicado a ser realizado pelos Parâmetros Curriculares para o Ensino Médio (PCNEM), onde consta que:

contextualizar o conteúdo nas aulas com os alunos significa primeiramente assumir que todo conhecimento envolve uma relação entre sujeito e objeto. Nesses documentos, a contextualização é apresentada como recurso por meio do qual se busca dar um novo significado ao conhecimento escolar, possibilitando ao aluno uma aprendizagem mais significativa (Brasil, 1999).

Essa prática também está de acordo com o ensino por investigação, onde alunos são colocados em situação de realizar pequenas pesquisas, combinando simultaneamente conteúdos conceituais, procedimentais e atitudinais (POZO, 1998). A experimentação no ensino de Química constitui um recurso pedagógico importante que pode auxiliar na construção de conceitos (FERREIRA *et al.*, 2010).

A utilização de temas cotidianos, como a qualidade do café e sua importância na saúde humana, é um poderoso mecanismo para dar sentido aos conteúdos estudados em sala de aula pelo aluno, que muitas vezes não consegue relacionar o que se estuda a algo prático e próximo de sua realidade.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral

Determinar o teor de fenólicos e a atividade antioxidante do café utilizando aparelho smartphone para aquisição e análise de imagens.

2.2 - Objetivos específicos

- ✓ Obter os extratos das amostras de café nos diferentes estádios de maturação e graus de torrefação;
- ✓ Determinar o teor de fenólicos pelo método de análise de imagem;
- ✓ Determinar teor de fenólicos utilizando a espectrofotometria UV-Vis para comparação dos resultados;
- ✓ Avaliar o poder redutor das amostras de café pelo aplicativo PhotoMetrix®;
- ✓ Investigar o poder redutor pelo espectrofotômetro UV-Vis;

- ✓ Apresentar o método inovador na sala de aula e utilizar como tema gerador no ensino de química.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - Café

O café (*Coffea* spp.) (Figura 1), é uma das culturas mais tradicionais da agricultura brasileira. Originário da Etiópia foi levado a Arábia, onde os árabes utilizavam a planta na prática da medicina. Da Arábia foi levado para regiões do Egito e Turquia, sendo introduzido na Europa no século XVII, em terras italianas e inglesas, e posteriormente se disseminou pelo restante do continente. Chegou ao Brasil, por Belém no Pará, em 1727, vindo da Guiana Francesa. Em virtude das favoráveis condições edafoclimáticas o cultivo de café espalhou da Região Norte para vários Estados (BRASIL, 2018).



Figura 1 - *Coffea* spp.

Disponível em: <http://ruralpecuaria.com.br/tecnologia-e-manejo/cafe/cultivares-de-cafeeiros-coffee-arabica-l-para-a-regiao-centro-oeste-do-estado-de-sao-paulo.html>

Em seu cultivo existem as espécies café *arábica* (*Coffea arabica*), correspondente a 70% da produção mundial e do café *robusta* (*Coffea canéfora*) que

representa os demais 30 %. O café *arabica* apresenta maior variedade, dentre as quais, destacam-se os tipos: Bourbon Amarelo e Vermelho, Catuaí Amarelo e Vermelho, Mundo Novo etc. Estas plantas apresentam maior teor de açúcares e menor teor de cafeína em sua composição química. Esses fatores são relacionados com a produção de bebidas de maior qualidade. Já o café *robusta* normalmente é associado a bebidas de menor qualidade, sendo mais utilizado na preparação de blends e café expresso (EMBRAPA, 2003).

O café *arábica* predomina em lavouras do estado de Minas Gerais, maior produtor nacional de café, onde corresponde a 99 % de suas lavouras, também no estado de São Paulo, que é responsável pela exportação de 2/3 do total das exportações nacionais, e em outros estados como Bahia e Paraná. O café conilon é cultivado majoritariamente no Estado do Espírito Santo, segundo maior produtor nacional do fruto, onde também há cultivos de café *arábica*, e outros estados como Bahia, Rio de Janeiro, Rondônia e norte de Minas Gerais. Os seis estados citados atingiram 98 % do volume da safra nacional em 2017 (EMBRAPA, 2018). No mesmo ano o café foi o quinto produto na exportação brasileira, movimentando US\$ 5,2 bilhões (BRASIL, 2018).

A data de 24 de maio foi instituída pela ABIC – Associação Brasileira da Indústria do Café, para celebrar o Dia Nacional do Café, uma data que simboliza o início da colheita em grande parte das regiões cafeeiras do Brasil (ABIC, 2019). Já a data internacional em comemoração a bebida é dia 14 de abril, comemorado como O Dia Mundial do Café.

O café é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, uma bebida nutracêutica (nutricional e farmacêutica), rico em minerais, contém vitamina B (niacina) e a cafeína que é segura na dose existente em 3 ou 4 xícaras diárias (até 500 mg/dia), a qual estimula a atenção, a concentração, a memória e o aprendizado escolar, açúcares, aminoácidos, lipídeos, também ácidos clorogênicos, antioxidantes naturais, que formam no processo adequado de torra os quinídeos, que ajudam a prevenir a depressão, doenças cardiovasculares e doença de Parkinson (ENCARNAÇÃO e LIMA, 2003; MONTEIRO e TRUGO, 2005; GARAMBONE e ROSA, 2007; GOTTELAND e DE PABLO, 2007).

O café pode ser classificado pelo sabor da bebida, pelo tipo de grão e grau de moagem, como demonstrado na Figura 2.

Classificação oficial de café pela bebida

Classificação	Características
Estritamente mole	Bebida de sabor suavíssimo e adocicado
Mole	Bebida de sabor, acentuado e adocicado
Apenas mole	Bebida de sabor, porém com leve adstringência
Dura	Bebida com sabor adstringente e gosto áspero
Riada	Bebida com leve sabor de iodofórmio ou ácido fênico
Rio	Bebida com sabor forte e desagradável, lembrando iodofórmico ou ácido fênico
Rio Zona	Bebida de sabor e odor intoleráveis ao paladar ao olfato

Classificação oficial de café por peneira

Tipo de grão	Tamanho de grão
Grão chato grosso	Peneira 17 e maiores (café grande)
Grão chato médio	Peneira 15 e 16 (café médio)
Grão chatinho	Peneira 12,13 e 14 (café muido ou chatinho)
Grão moca grosso	Peneira 11 a 13 (moca grande)
Grão moca médio	Peneira 10 (moca médio)
Grão moquinha	Peneira 8 e 9 (moca miúdo ou moquinha)

Classificação de café quanto ao grau de moagem

Grau de moagem	Preparo
Puverizado	Café árabe, em que o pó não é coado
Fina	Filtração (filtros de papel, coador de pano)
Média	Café expresso
Grossa	Cafeteira italiana

Figura 2 - Classificação do café

Fonte: Mercado café

A qualidade da bebida depende das operações anteriores ao beneficiamento, tais como tipo de colheita, estágio de maturação dos grãos, preparo e secagem do café (FAGGAN *et al*, 2011).

Garruti e Gomes (1961) verificaram uma discrepância na qualidade do fruto de acordo com o nível de maturação (Figura 3), sendo que, os frutos que foram colhidos antes do período ideal de maturação apresentaram uma qualidade de bebida inferior (bebida dura) aos colhidos no período correto. De acordo com os autores, os frutos colhidos antecipadamente não apresentavam alguns componentes químicos em

níveis ideais. Carvalho *et al.* (1991) relataram que o café deve ser colhido no ponto ótimo de maturação (cereja), pois quando colhido verde ou mais seco, prejudica muito a qualidade da bebida.



Figura 3 – Ciclo de maturação do grão de café

Disponível em: <http://aqia.net/aqia-coffee/>

Segundo pesquisadores, os frutos colhidos antes do período ideal apresentaram uma qualidade de bebida dura, com sabor adstringente e áspero, sendo classificada como bebida inferior. Mais tarde foi observado por Cortez (2001) que um dos fatores responsáveis por essa característica é o efeito no metabolismo do ácido clorogênico e do triptofano.

Outro fator de grande importância na qualidade da bebida e no teor de compostos fenólicos do café é o tipo de torrefação (Figura 4).



Figura 4 – Diferentes torragens dos grãos de café

Disponível em: <http://www.specialecafe.com.br/category/cafes-especiais/>

Os diferentes tipos de torrefação têm interferência direta nas características da bebida, como acidez, aroma, corpo e amargor, como demonstrado na Figura 5.

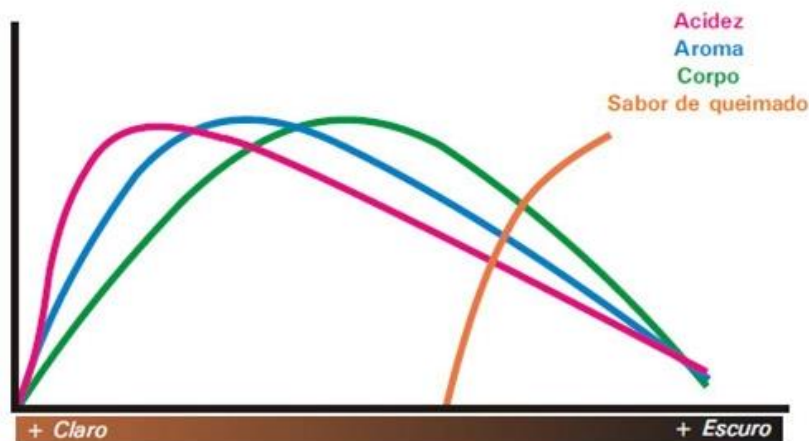


Figura 5 – Grau de qualidade do sabor do café

Disponível em: <https://avaliandocafes.com.br/tipos-de-torra/>

Souza *et al.* (2018) demonstram em seu trabalho que o teor de fenólicos foi maior em café com torrefações leves (torra clara) e que o teor de compostos fenólicos diminuiu com o aumento da torrefação. Resultados como o mesmo perfil para a atividade antioxidante foram encontrados para o café conilon no trabalho de Moraes *et al.* (2009).

3.2 - Compostos bioativos

Os compostos bioativos são produtos do metabolismo secundário das plantas, biosintetizados a partir de nutrientes, da água e da luz que recebem. O termo bioativo é derivado da interação biológica com o organismo humano e animal (YANG *et al.*, 2016). Alguns desses compostos podem ser ou não tóxicos, dependendo da dosagem utilizada (ISMAIL, 2004). Na planta esses compostos bioativos possuem função ligada ao relacionamento da planta com o meio em que vive (PAVARINI *et al.*, 2012).

No metabolismo primário acontece a produção de compostos como a lignina, celulose, proteínas, lipídios, açúcares e outras substâncias vitais a planta e fornecedoras de energia (MARTINS e NUNEZ, 2015). No metabolismo secundário, são produzidos compostos bioativos de baixo peso molecular, que geralmente existem

em pequenas concentrações e que se caracterizam pela proteção da planta, situação de estresse, defesa contra predadores naturais, proteção contra radiação (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Existem vários fatores que influenciam na composição química da planta. A produção desses metabólitos ocorre em um determinado tecido, órgão ou célula e em algum estágio de desenvolvimento específico. Além disso, os compostos bioativos podem ser influenciados pela região geográfica, clima, período de coleta, condições de armazenamento e processamento (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Entre os bioativos presentes nas plantas destacam-se os grupos dos compostos fenólicos, terpenos e alcaloides (cada um caracterizado por uma rota biosintética específica).

3.3 - Compostos fenólicos

O café contém diversos componentes interessantes tanto para pesquisa quanto para indústria farmacêutica e de alimentos, dentre esses compostos destaca-se os compostos fenólicos (PANUSA *et al.*, 2013). Estudos relatam elevada concentração de ácidos fenólicos, em particular de polifenóis, como o ácido clorogênico em amostra de café (NARITA e INOUE, 2011). O café tem sido a principal fonte de ácido clorogênico da dieta humana (LAFAY *et al.*, 2006). Ácidos clorogênicos são uma família de ésteres formados por certos ácidos hidroxinâmicos e o ácido quínico (NARDINI *et al.*, 2002). Este último, junto ao ácido cafeico, forma um éster chamado ácido clorogênico (OLTHOF *et al.*, 2001). Um litro de café fornece de 500 a 800 mg de ácido clorogênico, o que corresponde a 250 a 400 mg de ácido cafeico (OLTHOF *et al.*, 2003). Mais de 50% dos americanos consomem café e a média per capita é de duas xícaras por dia (SALAZAR-MARTINEZ *et al.*, 2004).

Compostos bioativos produzidos pelo metabolismo secundário têm demonstrado efeitos positivos na saúde humana. Sua presença em espécies vegetais tem afetado o consumo mundial das mesmas, auxiliando na prevenção de doenças (JACQUES e ZAMBIAZI, 2011; RAUDONEA *et al.*, 2017).

Os compostos fenólicos são um dos mais importantes constituintes vegetais, divididos em subclasses, podem ser simples ou complexos e têm a característica de possuírem pelo menos um anel aromático. Podem ser derivados do ácido benzoico

ou do ácido cinâmico, fazendo parte deste grupo flavonoides, ácidos fenólicos entre outros (TAIZ e ZEIGER, 2004; PEREIRA *et al.*, 2009).

Os ácidos fenólicos são hidroxilados (C6-C1), derivados de ácido benzoico, comuns no estado livre, bem como combinados como ésteres ou glicosídeos como o ácido gálico (PEREIRA *et al.*, 2009). Os ácidos hidroxicinâmicos (C6-C3), mais comuns que os ácidos hidroxibenzóicos, raramente encontram-se na forma livre, mas ocorrem frequentemente sob a forma de ésteres glicosilados (SANDHAR *et al.*, 2011).

Os flavonóides constituem uma classe de compostos polifenólicos de ampla distribuição no reino vegetal. Suas estruturas são baseadas em um núcleo que consiste de dois anéis fenólicos (A e B) e um anel (C) (Figura 6), que pode ser um pirano heterocíclico, como no caso de flavanóis (catequinas) e de antocianidinas, ou pirona, como nos flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanonas, que possuem um grupo carbonila na posição C4 do anel (C), compreendendo as principais classes dos flavonoides (Figura 7) (HUBER, 2007).

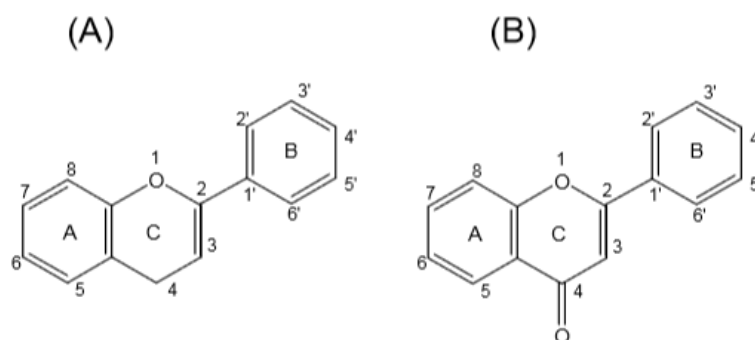


Figura 6 - (A) Estrutura básica dos flavonóides e (B) Estrutura básica dos flavonóides com grupo carbonila no C-4.

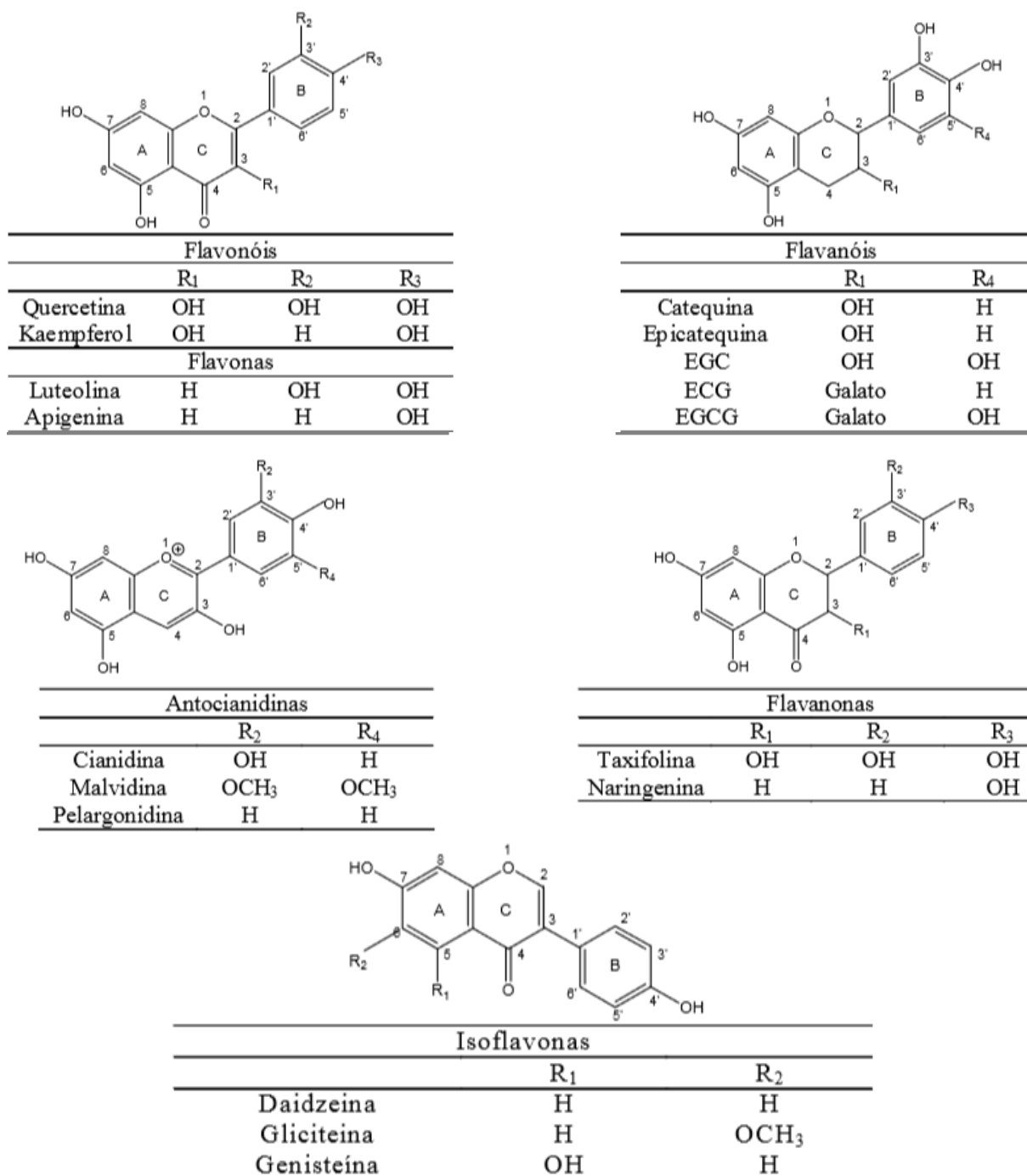


Figura 7 – Principais classes dos flavonoides

A atividade biológica dos flavonoides e de seus metabólitos depende da sua estrutura química e dos vários substituintes da molécula, uma vez que a estrutura básica permite uma série de modificações, tais como, glicosilação, esterificação, amidação, hidroxilação, entre outros mecanismos que irão modular a polaridade, toxicidade e direcionamento intracelular destes compostos (HUBER, 2007).

3.4 - Atividade antioxidante

Os estudos envolvendo compostos antioxidantes naturalmente presentes em alimentos e a prevenção ou controle de algumas doenças não transmissíveis têm chamado a atenção da comunidade científica e da população em geral (SUCUPIRA *et al.*, 2012). De modo geral, os antioxidantes podem ser definidos como moléculas capazes de diminuir ou prevenir a oxidação de outras moléculas, podendo atuar em alimentos ou em sistemas biológicos. Em alimentos, ocorrem reações de auto-oxidação em cadeia. Em organismos vivos, encontram-se relacionados com diversas patologias em humanos, como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas, neoplasias e AIDS (BARREIROS *et al.*, 2006).

Diversos compostos, classificados em naturais e sintéticos, possuem reconhecida atividade antioxidante. Dentre os sintéticos mais utilizado pela indústria de alimentos, destaca-se o hidroxitolueno butilado (BHT), padrão utilizado no presente trabalho (RUFINO *et al.*, 2006). Sua estrutura está representada a seguir, na Figura 8:

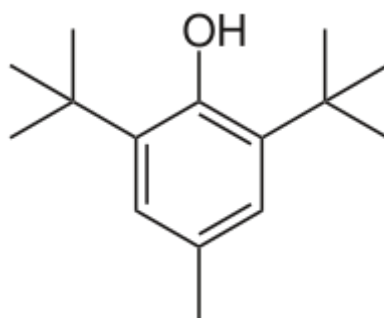


Figura 8 - Estrutura do hidroxitolueno butilado (BHT)
Fonte: Wikipédia

A busca por compostos bioativos com potencial antioxidante torna-se cada vez mais crescente, devido a seus benefícios a saúde humana (RAUDONEA *et al.*, 2017). Dentre estes, entre os naturais, destacam-se os compostos fenólicos, os mais abundantes na natureza, que englobam uma vasta gama de substâncias, as quais possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos.

A atuação desses compostos como antioxidantes ocorre por meio de mecanismo de doação de hidrogênio e/ou transferência de elétrons para o radical livre, sendo assim chamado de sequestradores de radicais livres. O número de hidroxilas presentes nos compostos fenólicos, bem como sua localização, tem influência direta na sua atuação como antioxidante.

As ações antioxidantes como a captura de radicais livres, entre outras, são favorecidas por reações de oxidação e de redução. Substâncias doadoras de elétrons podem reagir com espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, convertê-las em compostos mais estáveis e finalizar reações radicalares. Nesse sentido, é importante determinar o poder de redução de substâncias antioxidantes, ou seja, a capacidade que o composto químico tem de doar elétrons e ser oxidado, pois uma força redutora elevada pode indicar uma atividade antioxidante alta. O poder redutor está relacionado à capacidade de reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} , antioxidantes que atuam por transferência de hidrogênio, particularmente tiols e carotenóides, não serão determinados.

O potencial antioxidante das espécies vegetais pode estar relacionado ao sinergismo de compostos bioativos tais como as vitaminas C, ácidos fenólicos, flavonoides e carotenoides (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2008).

3.5 - Determinação usando o aplicativo do celular

A determinação de compostos bioativos constitui uma análise de grande interesse, visto que, esses grupos fitoquímicos possuem reconhecida atividade antioxidante. Embora a caracterização qualitativa e quantitativa dos compostos fenólicos seja efetiva quando se utilizam métodos cromatográficos, a utilização da técnica espectrofotométrica permite uma rápida estimativa do teor total de compostos fenólicos em determinada amostra. No entanto, muitos desses métodos são trabalhosos, envolvem equipamentos caros, consomem grandes quantidades de

reagentes e não podem ser usados para análises *in situ* devido à sua baixa portabilidade.

Para superar essas desvantagens, um método simples e barato tem sido recentemente utilizado em análises químicas, empregando análise de imagem ou baseada em imagem digital. Nesta metodologia, câmeras (PAQUET-DURANT *et al.*, 2012), bem como scanners (SOROURADDIN *et al.*, 2015), webcams (LYRA *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2013) e celulares (INTARAVANNE *et al.*, 2012) são geralmente usados para obter imagens correlacionadas a uma abordagem colorimétrica e/ou refletância, conforme apresentado em reações teste (BENEDETTI *et al.*, 2015b). Nesta estratégia, a intensidade da radiação é diretamente proporcional à concentração do analito (KOHL *et al.*, 2006). Reações colorimétricas envolvendo testes pontuais são extremamente simples, rápidas e baixo custo, aplicável a compostos orgânicos e inorgânicos (ZERAİK *et al.*, 2008).

Benedetti *et al.*, (2015a) desenvolveram um procedimento analítico simples e de baixo custo para determinação de sulfito em bebidas. Amostras foram submetidas a análises baseadas na captura de imagens, utilizando decomposição do sistema e da imagem no vermelho, verde e azul, Modelo RGB. Lyra *et al.*, (2009) propuseram um método de espectrometria de emissão digital de chama (DIB-FES) para a análise química quantitativa empregando uma webcam para capturar a imagem digital. Monošík *et al.*, (2015) apresentaram um simples estudo de cromatografia em papel baseado em ensaio colorimétrico para a análise de constituintes de alimentos usando uma câmera de smartphone. As imagens foram avaliadas em software, a fim de obter dados quantitativos.

O uso de câmeras com dispositivo de carga acoplada (CCD), sensor e semicondutor de óxido de metal complementar (CMOS) foi introduzido em química analítica com objetivo de se obter aquisição rápida de sinal, baixa estabilidade e boa linearidade, proporcionando o desenvolvimento de novos métodos analíticos com alta sensibilidade, robustez, e também, rápido e baixo custo de implementação. Esses sensores são capazes de converter a intensidade de luz incidente em valores digitais para gerar resposta a partir de uma imagem baseada no modelo de cores RGB, no qual três matrizes são usadas para armazenar a informação (SENA *et al.*, 2011).

As imagens digitais podem ser representadas por cores de diferentes modelos. O modelo RGB é reconhecido como sistema de cores (LOPEZ-MOLINERO *et al.*, 2010). Neste modelo, vermelho, verde, e azul, as cores primárias, transmitem

luz para exibir cor, e as outras cores são geradas por combinação linear destas três cores, devido à aditividade do modelo utilizado. As intensidades da cor gerada são armazenadas em 256 níveis em uma escala de 0 a 255 para cada cor primária (R, G ou B), onde 0 é preto puro (0 para cada uma das 3 cores primárias) e 255 é branco puro (mistura de 255 níveis para cada cor primária; PACIORNIK *et al.*, 2006).

A combinação de imagens digitais e colorimétricas ou métodos cromogênicos, que podem ser analisados a partir da cor pelo modelo RGB é uma possibilidade atual de desenvolvimento direto e rápido de determinações quantitativas (LOPEZ-MOLINERO *et al.* 2010; SOUZA *et al.*, 2016; PETERS *et al.*, 2015; EVANS *et al.*, 2014). Neste trabalho, as imagens digitais foram adquiridas de forma colorimétrica por meio da reação teste local entre FeCl_3 e quercetina e da reação teste local entre FeCl_3 com ferricianeto de potássio $\text{K}_3[\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6]$ e BHT, usando o modelo RGB. O método proposto para a determinação dos fenólicos totais e da atividade antioxidante do café mostrou-se rápido, sendo uma alternativa econômica para análise de controle de qualidade em processos industriais e / ou artesanais.

4 – METODOLOGIA

4.1 - Obtenção das amostras de café

As amostras de café foram obtidas através de cultivos realizados por alunos da 2ª série do ensino médio, da Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio Juvenal Nolasco, em lavouras no município de Divino de São Lourenço, no sul do estado do Espírito Santo. Foram coletadas amostras em diferentes estádios de maturação, preparadas em graus de torrefação claro, médio e escuro.

4.2 - Extração

Massas de aproximadamente 1 g das amostras de café, nos diferentes estádios de maturação e graus de torrefação, foram pesadas separadamente, trituradas e

submetidas a extração com 100 mL de etanol e água na proporção de 50%. A seguir, os extratos foram filtrados e armazenados em frascos para as posteriores análises.

4.3 - Determinação de fenólicos totais

A análise colorimétrica de compostos fenólicos nas amostras de café foi baseada nas reações de oxirredução, empregando o cloreto férrico (FeCl_3). O resultado positivo é evidenciado pelo desenvolvimento de coloração azul ou verde azulada, sendo as medidas realizadas a partir de um aplicativo para telefone celular (PhotoMetrix®) em um ambiente de luz controlada. Para preparação da curva analítica, foi utilizada quercetina como padrão nas concentrações de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 mg L^{-1} , sendo que a leitura foi realizada utilizando o smartphone e o espectrofotômetro de UV-Vis ($\lambda = 254 \text{ nm}$), tendo sido obtida uma curva analítica para cada um dos métodos utilizados.

O preparo das amostras de café foi realizado conforme descrito para a curva analítica, sendo que o teor de fenólicos totais foi expresso em mg equivalentes de quercetina por g de amostra. Os resultados obtidos usando o aplicativo Photometrix® foram comparados aos obtidos utilizando o espectrofotômetro de UV-Vis de feixe único (Shimadzu, Mini 1240), equipado com cubeta de vidro de caminho óptico de 1 cm, no comprimento de onda de 294 nm. Para isso, foram realizadas análises de variância (ANOVA) e teste de Tukey.

4.4 - Avaliação do poder redutor

A avaliação do poder de redução do café foi realizada de acordo com a metodologia citada por Yen e Chen (1995), com modificações. Foi construída uma curva analítica utilizando as seguintes concentrações do padrão BHT: 0; 0,1; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 mg mL^{-1} . Para isso, volumes adequados da solução estoque de BHT 100 mg L^{-1} foram transferidos para tubos de ensaio de 25 mL. A estes volumes foram adicionados: 2,5 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 2,5 mL de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a 1% (p/v). A mistura foi incubada a 45 °C por 20 min. A seguir, foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (p/v) à solução contida no tubo de ensaio, com posterior

agitação. Um volume de 2,5 mL da mistura foi transferido para outro tubo de ensaio, no qual foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de FeCl_3 a 0,1% (p/v), /sob agitação. A leitura das soluções de BHT, nas diferentes concentrações, foi realizada usando o aplicativo Photometrix® e o espectrômetro UV-Vis ($\lambda = 706 \text{ nm}$), tendo sido obtidas duas curvas analíticas, uma para cada método.

Para avaliação do poder redutor, as amostras de café foram preparadas da mesma forma que para a construção da curva analítica, destacando o fato de ter sido utilizada uma alíquota de 1,0 mL de cada amostra. A seguir, foi realizada a leitura no aplicativo Photometrix e no espectrofotômetro UV-Vis, em triplicata.

Da mesma forma que na determinação de fenólicos totais, testes estatísticos, análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, foram utilizados para comparar a similaridade entre os dois métodos utilizados com um intervalo de confiança de 95%.

4.5 - Montagem do aparato para a realização das medidas usando Photometrix®

As reações do teste foram realizadas em uma placa de porcelana contendo nove vasos de reação. Pipetas automáticas (Eppendorf, Alemanha) foram usadas para transferir volumes exatos de reagentes e/ou amostras da placa de porcelana para cubetas de análise. Os produtos colorimétricos foram fotografados com uma câmera de telefone celular Motorola G6 play com resolução de 13.0 MP.

Para garantir a reprodutibilidade das imagens digitais adquiridas, um aparelho semelhante ao descrito por Benedetti *et al.*, (2015b) foi usado com alguns ajustes. A cabine utilizada na obtenção de dados foi construída com dimensões de 22 cm de comprimento, 17 cm de largura e 23 cm de altura (Figura 9), com um suporte como estojo onde o smartphone Motorola G6 play com resolução de 13 MP é colocado, ficando em uma posição vertical (Figura 9). No centro da face da cabine, um orifício de 4 cm de diâmetro é posicionado a 12 cm da base do celular até centro da circunferência (Figura 9) para posicionamento da câmera. O equipamento montado se mostrou compatível com outros modelos de aparelhos smartphones. Mais detalhes sobre a cabine coletora podem ser vistos no apêndice A.



Figura 9 - Equipamento utilizado para captação de imagens digitais

No interior fica alojada uma placa divisória de 21 cm de comprimento, 22 cm de altura e 15 cm de largura (Figura 10). A 12 cm da base da placa divisória foi aberta uma janela de 4 cm por 3 cm (Figura 10) para a obtenção das imagens.



Figura 10 - Interior do equipamento de captação de imagens digitais

Na traseira da referida placa, acima da janela de imagem, foi colocado um suporte com um furo no centro feito com uma broca de 13 mm e que serve para colocar

o tubo de ensaio contendo as amostras (Figura 11). Na parte inferior da janela instalou-se um suporte que serve de limite, de forma a garantir que o tubo de ensaio seja colocado sempre na mesma posição e evitando, deste modo, a alteração dos dados fornecidos pela imagem.



Figura 11 - Parte do aparelho onde se localiza as amostras para obtenção das imagens digitais

Na tampa da cabine de coleta de dados foi fixado, na parte inferior (parte interna da cabine), um conjunto de LED (Light Emitting Diode) (Figura 12) retirado de uma lâmpada de 9 Watts (Figura 12).



Figura 12 - Lâmpada utilizada para obtenção do led utilizado na iluminação do equipamento

Após fixada a placa de LED, a mesma foi ligada a um fio paralelo 2,5 mm, com uma extensão de 3 metros e um plugue de dois pinos, para ser ligado diretamente em tomadas mais distantes, com funcionamento em 220 ou 110 volts, uma vez que a lâmpada de LED é também bivolt (100~240 volts).

Por fim, foi pintada toda a parte externa da cabine com tinta preta fosca, e a parte interna da parede de traz foi deixada na cor branca para contraste da imagem. A placa divisória e os suportes não foram pintados, permanecendo na cor branca. A tampa da cabine também foi pintada de preto fosco, tanto interna quanto externamente, sendo que a tinta usada foi própria a suportar alta temperatura (600 °C), com o objetivo de evitar a queima do material, tendo em vista o aquecimento intenso provocado pelas lâmpadas de LED.

4.6 - Aplicativo usado para coleta de dados

O aplicativo PhotoMetrix® foi utilizado para a calibração e para determinação colorimétrica de fenólicos totais e do poder redutor. O aplicativo para telefone celular foi obtido gratuitamente no Google Play Store (HELPER, 2017).

Na interface principal do aplicativo há opções de análise univariada e multivariada, além de configurações e informações sobre o aplicativo. A análise escolhida para aplicação no presente trabalho foi a univariada. A primeira execução foi a calibração, onde foi adicionado o número de concentrações do padrão para a construção da curva analítica. Após essa etapa, foi informada a concentração do padrão a ser medida e realizada a medida colorimétrica da solução posicionada no aparato. No final das medidas individuais de cada padrão, foram obtidos os resultados para as calibrações lineares com diferentes parâmetros de imagem (RGB, HSV, HSL e HSI).

A segunda execução foi a medida da concentração na amostra a partir de um modelo de calibração previamente selecionado, ou seja, a melhor curva de calibração com coeficientes de regressão (R^2) próximo a um. As medidas foram realizadas semelhantemente à realizada com os padrões. No final das leituras, o aplicativo fornece a concentração do analito na amostra diluída. O celular Motorola G6 play

equipado com câmera fotográfica utilizado para as medições possui resolução de 13 MP.

4.7 - Produtos Químicos

Cloreto férrico hexahidratado (99 – 102%) e ácido tricloroacético ($\geq 99\%$) foram adquiridos da Merck. Quercetina ($\geq 95\%$) e hidroxitoluenobutilado ($\geq 99\%$) foram comprados da Sigma Aldrich. Ferricianeto de potássio ($\geq 99\%$) foi adquirido da Vetec. Etanol comercial foi adquirido no comércio local.

Solução estoque de quercetina (100 mg mL^{-1}) em etanol : água ultrapura (1:1) foi preparada para determinação de fenólicos totais;

Solução de ferricianeto de potássio 1% (p/v) em água ultrapura foi preparada para determinação de fenólicos totais e da solução estoque de quercetina;

Soluções de hidroxitolueno butilado (BHT) 100 mg mL^{-1} , de ferricianeto de potássio 1% (p/v); de ácido tricloroacético 10% (p/v) e de tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 6,6) foram preparadas em etanol : água ultrapura (1:1) para determinação da atividade oxidante.

As soluções foram preparadas com água ultrapura (resistividade $> 18,0 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) obtida de um sistema Millipore Milli-Q (EUA).

4.8 - Tratamento de Imagem Digital

As imagens capturadas foram analisadas usando o software Photometrix®, disponível gratuitamente em lojas de aplicativos para smartphones. As imagens foram processadas por este software que as decompõem em uma matriz RGB. Para isso, um equação linear foi empregada de forma semelhante ao cálculo de transmitância utilizado para reações colorimétricas descritas pela lei de Lambert-Beer. Nela, o sinal (S) é obtido subtraindo do nível máximo de intensidade cor permitido nos canais RGB (255) o valor de intensidade da cor primária (I) obtida durante o processamento das imagens pelo Photometrix®, conforme Equação 1:

$$S = 255 - I$$

Onde, S = sinal

I = intensidade da cor primária obtida pelo aplicativo

255 = nível máximo de intensidade

4.9 – Aplicação do trabalho como tema gerador nas aulas de Química do ensino médio

No dia 14 de maio de 2019 o referido trabalho foi aplicado como tema gerador nas aulas de Química para alunos do ensino médio da Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio Juvenal Nolasco, localizada na cidade de Divino de São Lourenço, Espírito Santo. Participaram da aula 18 alunos da segunda série do ensino médio, turma 2°V01, e 14 alunos da terceira série, turma 3°V01.

Foi solicitado anteriormente pelo professor que os alunos levassem para a escola, no referido dia, grãos de café em diferentes estádios de maturação, já que a maioria dos alunos residem em propriedades rurais, onde a maioria de suas famílias trabalho no cultivo de café *arabica* para comercialização.

Inicialmente ocorreu uma apresentação para os alunos sobre os conceitos teóricos do trabalho, abordando assuntos como: as principais características do café, sua composição química, compostos fenólicos, atividade biológica de compostos bioativos e influência do estágio de maturação e grau de torrefação do café na preparação da bebida e na concentração de substâncias em sua composição. Para entendimento por parte dos alunos e como forma de abordar o assunto interdisciplinarmente, a professora de Biologia da referida escola, Valquíria Polastreli, participou da aula abordando os aspectos biológicos do trabalho, como os metabolismos primários e secundários dos vegetais e a atividade biológica no organismo humano de alguns compostos químicos presentes no café.

Posteriormente, para entendimento dos alunos sobre a utilização do aplicativo Photometrix®, sobre a importância da calibração para realização de determinação de compostos presentes no café e utilização da cabine coletora de imagens digitais, utilizou uma bebida já preparada de café para construção de uma curva analítica. A seis tubos de ensaio foram adicionados respectivamente 0, 5, 10, 15, 20 e 25 gotas da bebida, completando o volume de todos os tubos de ensaio com 30 gotas, adicionando água destilada, obtida no laboratório da escola. As amostras foram

inseridas na cabine coletora e as imagens digitais foram obtidas. Para cada amostra o aplicativo apresentou os dados dos sinais RGB.

Em seguida os alunos prepararam os extratos através de 1 g das amostras de café em diferentes estádios de maturação, com 100 mL de solução de etanol e água na proporção de 50 %. Os extratos foram filtrados e retirou-se 2 mL, aos quais foram adicionadas 17 gotas de solução de cloreto férrico (FeCl_3) 0,01 M, para análise colorimétrica. As imagens digitais foram capturadas e o dados de concentração de compostos fenólicos foram obtidos utilizando os dados da calibração realizada em laboratório.

Na sequência, os assuntos estudados por cada turma, foram abordados, separadamente, nas aulas de química, utilizando o experimento realizado como tema gerador. Com a turma do segundo ano foram abordados conteúdos como concentração, quantidade de matéria e reações químicas. E com a turma de terceiro ano, mais focada no momento no estudo de Química Orgânica, utilizou-se projeções com as estruturas dos flavonoides para o estudo das cadeias carbônicas, classificações dos átomos de carbono, funções orgânicas, propriedades dos compostos orgânicos, além de todo assunto abordado com a turma de segundo ano, na forma de uma revisão.

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Imagens digitais com telefone celular para determinações colorimétricas

Para a captura de imagens digitais, o sistema construído foi fortemente aprimorado para garantir a confiabilidade, exatidão/precisão e reprodutibilidade dos dados RGB obtidos. Primeiro, o melhor posicionamento do led de 9w localizado na parede superior do compartimento foi verificado, assim como a intensidade da luz emitida pelos potenciômetros de controle que permitem 30 mA de corrente. O melhor posicionamento do tubo de ensaio dentro da câmara é imprescindível para reduzir reflexos excessivos e também regiões com sombras, que afetam principalmente a repetibilidade do método DIB avaliado pelo desvio padrão relativo.

Para isso, foram usados os canais Red (R), Green (G) e Blue (B), do aplicativo Photometrix®, que, representam as cores primárias nas quais as demais são decompostas. Apenas um corante puro foi usado para fins de calibração para cada canal, porque apenas um canal apresentou maior sensibilidade que os outros. Então, curvas analíticas foram construídas conforme descrito nos itens 4.3 e 4.4, empregando os padrões quercetina e BHT, respectivamente.

Com base nisso, o dispositivo conseguiu capturar as imagens digitais de forma satisfatória. Os resultados do processo de calibração usando os corantes são mostrados na Tabela 1.

5.2 - Calibração Colorimétrica das Reações

A calibração para determinação de fenólicos totais foi realizada baseada na reação de redução de Fe^{3+} a Fe^{2+} pelo composto fenólico quercetina, formando um complexo amarelo com absorção em $\lambda = 294 \text{ nm}$. Um aumento na intensidade da cor desenvolvida na reação química (complexo formado com a quercetina) indica uma maior concentração do analito de interesse (fenólicos totais) no café avaliado. Dessa forma, a curva analítica para determinação de fenólicos totais em café foi construída utilizando quercetina em diferentes concentrações (Figura 13).

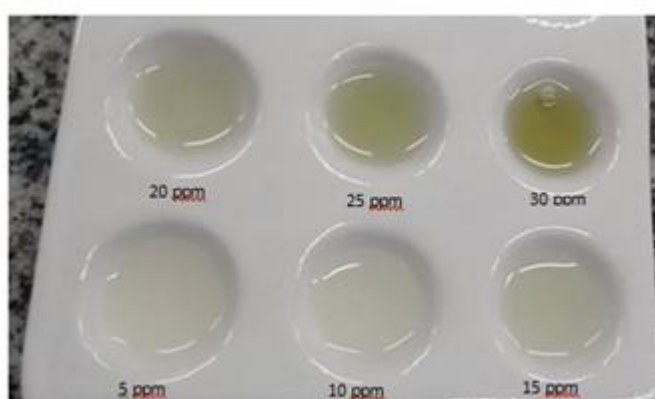


Figura 13 - Imagem da placa de porcelana com as concentrações de quercetina de 5 a 30 mg L^{-1}

Na Tabela 1, a seguir, estão registrados os valores das concentrações do padrão quercetina e suas respectivas intensidades de cores obtidas nos canais RGB

usando o programa Photometrix®. Esses dados foram utilizados para construção das curvas analíticas referentes aos canais RGB (Figura 14).

Na coluna Blue (B), foi observado o valor de 206 para 0 mg L⁻¹ e de 89 para 30 mg L⁻¹, ou seja, quanto mais concentrado, menor o valor de intensidade de cor obtida no canal Blue. No momento de fazer a leitura utilizando o smartphone é importante observar e sempre anotar esses valores.

Tabela 1 - Padrão quercetina em diferentes concentrações (mg L⁻¹) e seus respectivos valores de intensidade de cor registrados nos canais RGB.

Quercetina (mg L ⁻¹)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
0	207	206	206
5	201	199	183
10	187	183	160
15	167	162	135
20	167	159	127
25	144	137	108
30	124	120	89

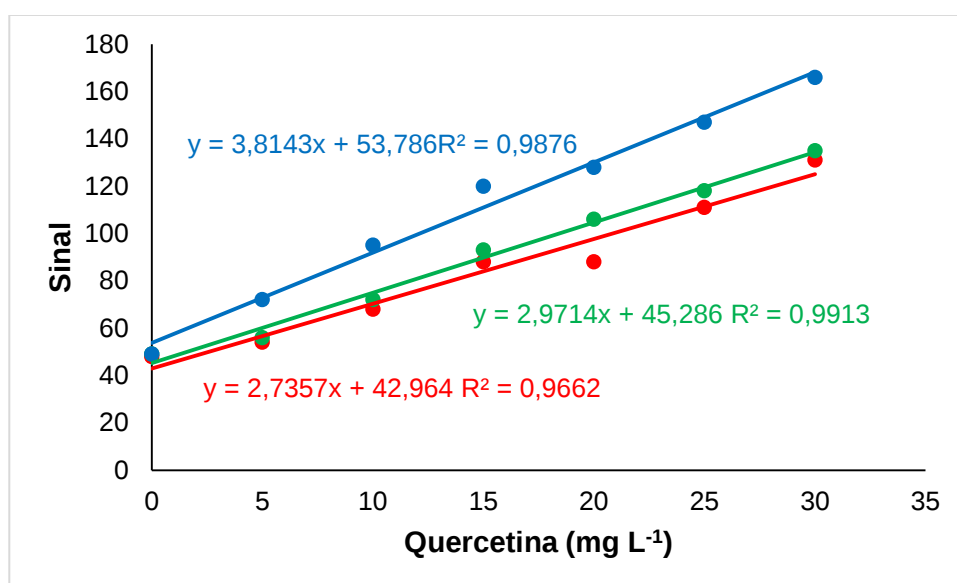


Figura 14 - Curvas analíticas obtidas nos canais red (R), green (G) e blue (B) para o padrão quercetina.

Avaliando as curvas analíticas (Figura 14) foi possível perceber que, apesar do canal B ter sido o mais sensível às alterações de concentração de quercetina (curva mais inclinada), a curva analítica por ele obtida é a menos linear que o canal R levando em consideração o coeficiente de correlação (R, $r^2 = 0,9662$; G, $r^2 = 0,9913$ e B, $r^2 = 0,9876$). Além do canal G ser o segundo mais sensível (Figura 14), a curva analítica

nele obtida (Figura 15) apresentou a melhor linearidade e, por isso, foi utilizada para determinação de fenólicos totais nos extratos de café.

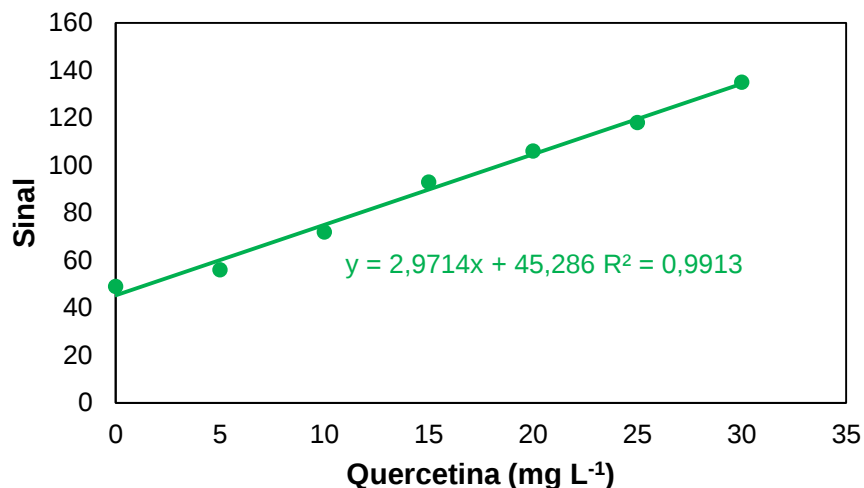


Figura 15 - Curva analítica obtida no canal Green (G) para o padrão quercetina.

A curva analítica para determinação de fenólicos totais pelo tradicional método de espectrofotometria no UV-Vis (Figura 16) foi obtida plotando um gráfico contendo no eixo x a concentração de quercetina (mg L⁻¹) e no eixo y as absorbâncias obtidas no UV-Vis em $\lambda = 294$ nm. Foram utilizadas as mesmas soluções de quercetina preparadas para construção da curva analítica usando o aplicativo Photometrix®.

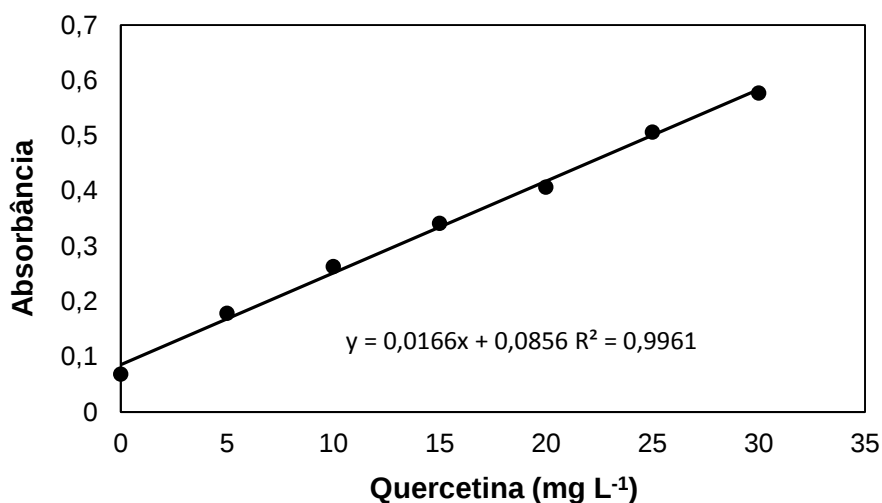


Figura 16 - Curva analítica do padrão quercetina obtida usando o espectrômetro UV-Vis.

A calibração para determinação do poder redutor foi realizada baseada na reação entre cloreto férrico (FeCl_3), ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) e

hidroxitolueno butilado (BHT), gerando um complexo verde-azulado com absorção em $\lambda = 706 \text{ nm}$. A intensidade da cor desenvolvida na reação química (complexo formado) é diretamente proporcional à concentração de antioxidantes presentes no café avaliado. As concentrações de BHT ($0,0$ a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$; $n = 6$ pontos) utilizadas na construção da curva analítica e suas respectivas intensidades de cores obtidas nos canais RGB, usando o programa Photometrix®, estão registradas na Tabela 2.

Tabela 2 - Padrão BHT em diferentes concentrações (mg L^{-1}) e seus respectivos valores de intensidade de cor registrados nos canais RGB

BHT (mg mL^{-1})	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
0	197	196	197
0,10	188	187	190
0,25	178	177	186
0,50	164	163	171
0,75	156	152	157
1,0	140	137	147

Da mesma forma que para determinação de fenólicos totais, para avaliação do poder redutor do café também foi obtida uma curva analítica para cada canal RGB (Figura 17) usando o aplicativo Photometrix®.

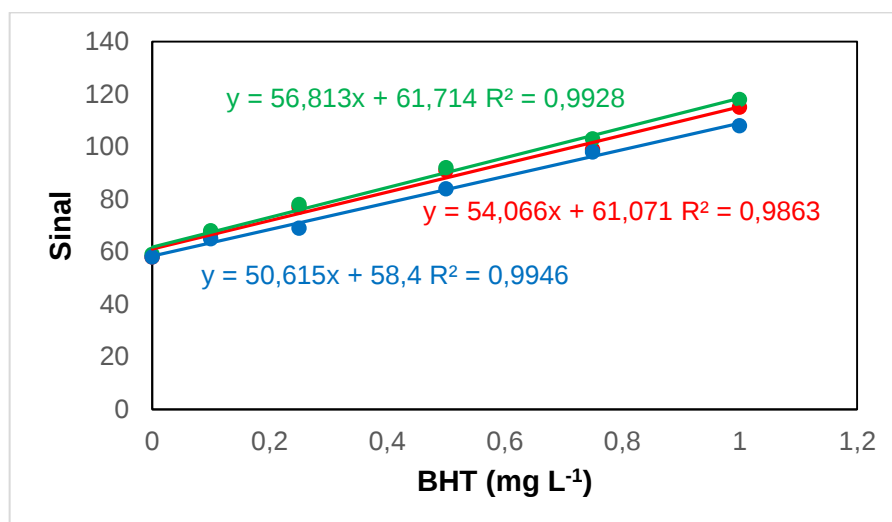


Figura 17- Curvas analíticas obtida nos canais red (R), green (G) e blue (B) para o padrão BHT usando o aplicativo Photometrix®.

A curva analítica obtida no canal G (Figura 18) foi escolhida para determinar o poder redutor nos extratos de café por apresentar a melhor sensibilidade em relação as diferentes concentrações de BHT quando comparada às demais (Figura 17). Além

disso, ela apresentou uma excelente linearidade ($r^2 = 0,9928$), superior à do canal R ($r^2 = 0,9863$) e praticamente igual à do canal B ($r^2 = 0,9946$) (Figura 17).

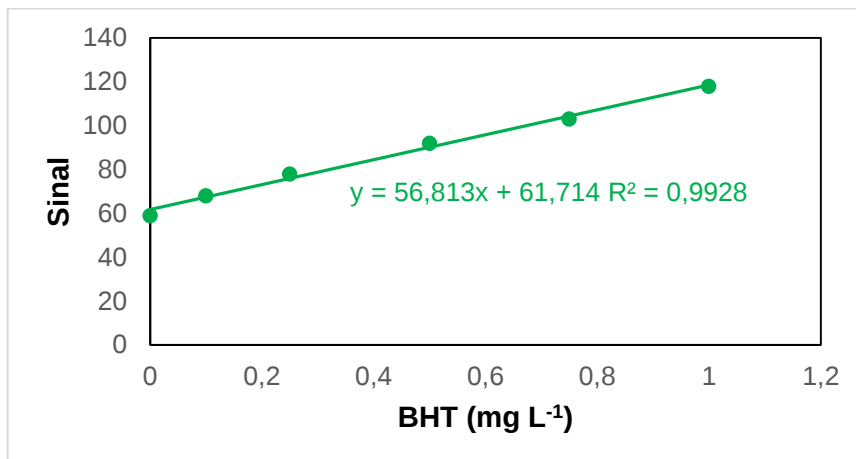


Figura 18 - Curva analítica obtidas no canal green (G) para o padrão BHT usando o aplicativo Photometrix®.

A curva analítica para determinação do poder redutor pelo método de espectrofotometria no UV-Vis (Figura 19) foi obtida plotando um gráfico contendo no eixo x a concentração de BHT (mg L^{-1}) e no eixo y as absorbâncias obtidas no UV-Vis em $\lambda = 706 \text{ nm}$. Foram utilizadas as mesmas soluções de BHT preparadas para construção da curva analítica usando o aplicativo Photometrix®.

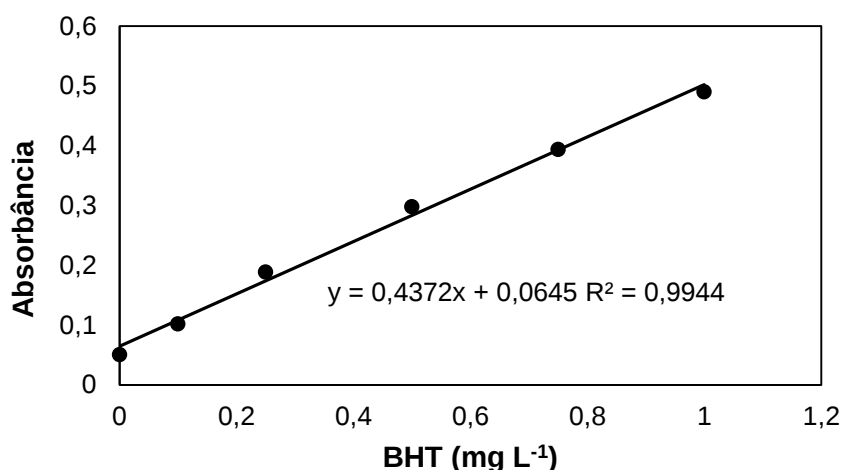


Figura 19 - Curva analítica para o padrão BHT obtida usando o espectrômetro UV-Vis.

5.3 - Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nos diferentes estádios de maturação do café.

Com aplicativo PhotoMetrix® foi possível realizar determinações colorimétricas sem a necessidade de instrumentos analíticos, com a possibilidade adicional da realização de medidas *in situ*.

Inicialmente foi avaliada uma faixa mais ampla de concentração dos padrões quercetina e BHT de forma a estabelecer a região linear para calibração. Após calibração, conforme descrito no item 5.2, a determinação de fenólicos totais e da atividade antioxidante nos extratos de café foi realizada através da captura de imagens com smartphone, seguida pela decomposição das cores obtidas, a partir das imagens, nas cores primárias vermelho (R), verde (G) e azul (B), usando o aplicativo Photometrix®.

Trabalhos semelhantes utilizando imagens digitais com telefone celular para determinações colorimétricas foram realizadas com diversas amostras, tais como vinho, águas minerais e solo (TORRES *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013; NETO *et al.*, 2016). Por ser um método simples e de baixo custo, a aquisição de imagens digitais por smartphone foi utilizada no estudo para classificação de águas minerais. As medidas foram realizadas diretamente sobre a amostra, baseando-se na reação de complexação entre íons metálicos constituintes das amostras e reagentes colorimétricos que, posteriormente, foram analisadas pela decomposição de suas cores com o sistema RGB, (NETO *et al.*, 2016). O mesmo sistema RGB foi utilizado em pesquisas para classificação de solos contaminados com diferentes teores de cromo em baixas concentrações (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Torres e colaboradores (2011) utilizaram webcam para aquisição de imagens para determinação de acidez em vinho em titulação ácido-base.

Na Tabela 3, a seguir, constam os valores das intensidades de cores obtidas pelo aplicativo Photometrix® nos canais RGB para determinação de fenólicos totais nas amostras de café vermelho, amarelo e verde. Tais valores foram subtraídos de 255 (nível de intensidade de cor máximo permitido nos canais RGB) e os resultados foram substituídos na equação da reta obtida no canal G ($y = 2,9714x + 45,286$ $R^2 = 0,9913$) para determinação da quantidade de fenólicos totais presentes nos extratos de café. O mesmo procedimento foi realizado com os dados das Tabelas 4-6.

Tabela 3 - Intensidades de cor obtidas nos canais RGB para os extratos de café (vermelho, amarelo e verde) usando o aplicativo Photometrix®.

Café vermelho	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
1	196	192	167
2	176	174	171
3	183	182	171
Café amarelo	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
1	185	194	176
2	183	184	176
3	185	184	176
Café verde	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
1	186	186	182
2	186	188	181
3	192	191	184

Tabela 4 - Teor fenólicos totais no café vermelho determinados usando o App e o UV-Vis

Café vermelho	Absorbância	App (mg 100 g ⁻¹)	UV-Vis (mg 100 g ⁻¹)
1	0,484	733,90	734,67
2	0,483	721,57	733,07
3	0,484	724,31	734,67
Média		726,59 ± 6,47	734,14 ± 0,92

Tabela 5 - Teor de fenólicos totais no café amarelo determinados usando o App e o UV-Vis

Café amarelo	Absorbância	App (mg 100 g ⁻¹)	UV-Vis (mg 100 g ⁻¹)
1	0,467	699,83	679,18
2	0,468	691,87	680,71
3	0,467	699,26	679,18
Média		696,99 ± 4,44	679,69 ± 0,88

Tabela 6 - Teor de fenólicos totais no café verde determinados usando o App e o UV-Vis

Café verde	Absorbância	App (mg 100 g ⁻¹)	UV-Vis (mg 100 g ⁻¹)
1	0,420	554,08	562,04
2	0,420	538,17	562,04
3	0,420	559,36	562,04
Média		550,54 ± 11,03	562,04 ± 0,00

5.4 - Influência da torrefação sobre o teor de fenólicos totais do café.

Na Tabela 7, estão registradas as absorbâncias e as quantidades de fenólicos totais encontradas nos extratos de café com diferentes tipos de torrefação, obtidas pelo aplicativo de smartphone e pelo espectrofotômetro UV-Vis, respectivamente.

Pode-se observar que os valores de fenólicos totais obtidos pelo aplicativo são muito próximos dos obtidos pelo espectrofotômetro, o que permite utilizar o aplicativo para determinação deste parâmetro em amostras de café, submetidas a diferentes processos de torrefação.

Tabela 7 - Teor de compostos fenólicos totais no café de acordo com a torrefação

Café (torrefação leve)	Absorbância	(mg quercetina 100g ⁻¹) App	(mg quercetina 100g ⁻¹) UV-Vis
1	0,449	633,5	634,8
2	0,448	632,1	632,1
3	0,449	632,1	634,2
Média		632,87 ± 0,71	633,70 ± 1,42
Café (torrefação média)	Absorbância	(mg quercetina 100g ⁻¹) App	(mg quercetina 100g ⁻¹) UV-Vis
1	0,418	534,29	532,06
2	0,418	518,44	522,06
3	0,418	539,08	536,06
Média		530,60 ± 10,80	530,06 ± 7,21
Café (torrefação forte)	Absorbância	(mg quercetina 100g ⁻¹) App	(mg quercetina 100g ⁻¹) UV-Vis
1	0,376	447,12	446,01
2	0,373	443,53	449,29
3	0,376	443,63	445,09
Média		444,76 ± 2,04	446,80 ± 2,21

O maior teor de fenólicos totais (632,87 ± 0,71 – app) foi encontrado no café submetido ao processo de torrefação clara. À medida que se aumenta o grau de torrefação, o teor de fenólicos diminui gradativamente, conforme observado na Tabela 7 (530,60 ± 10,80 e 444,76 ± 2,04 mg quercetina/100g de café submetido à torrefação média e clara, respectivamente). Esses resultados mostram que o processo de torra tem influência direta na composição química do café.

Estudos relatam que a qualidade da bebida, vem sendo afetada pelo procedimento de torrefação, alterando a composição química dos grãos e seus compostos antioxidantes, pois durante este processo ocorrem transformações de diferentes constituintes químicos (PARLIAMENT *et al.*, 2000; NARITA e INOUE, 2011). Além disso, ocorre degradação do ácido clorogênico (CLIFFORD, 2000).

Na Tabela 8, a seguir, constam os valores das intensidades de cores obtidas pelo aplicativo Photometrix® nos canais RGB para determinação de fenólicos totais nos extratos de café submetidos ao processo de torrefação clara, média e escura. Da mesma forma que na avaliação do teor de fenólicos em café, nos diferentes estádios

de maturação, esses valores foram usados para determinar o sinal fornecido pelo canal G e os resultados foram substituídos na equação da reta obtida no referido canal ($y = 2,9714x + 45,286$, $R^2 = 0,9913$) para determinação da quantidade de fenólicos totais presentes nos extratos de café (Tabela 7).

Tabela 8 - Intensidades de cor obtidas nos canais RGB para os extratos de café submetidos ao processo de torrefação clara, média e escura usando o aplicativo Photometrix®.

Café (torrefação forte)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)	(mg quercetina 100g ⁻¹) App
1	180	181	186	447,12
2	182	184	187	443,53
3	179	188	187	443,63
Café (torrefação média)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)	(mg quercetina 100g ⁻¹) App
1	184	180	183	534,29
2	182	188	184	518,44
3	185	182	183	539,08
Café (torrefação leve)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)	(mg quercetina 100g ⁻¹) App
1	175	173	179	633,5
2	170	170	177	632,1
3	172	177	178	633,0

5.5 – Determinação do poder redutor nas amostras de café

As atividades antioxidantes dos componentes naturais podem ter uma correlação recíproca com sua capacidade de redução (DUH, 1998). O método baseado na redução de Fe^{+3} a Fe^{2+} foi utilizado para determinar o poder redutor e avaliar a atividade antioxidante de café, ou seja, a capacidade dos constituintes fenólicos do café de reduzirem Fe^{+3} a Fe^{2+} formando um complexo colorido com Fe^{+2} . Os resultados da atividade antioxidante, de acordo com o grau de maturação de café, podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores obtidos da avaliação do poder redutor de café nos diferentes estádios de maturação

Amostra	Poder redutor (mg g ⁻¹)		
Café vermelho	UV-Vis (mg g ⁻¹)	App* (mg g ⁻¹)	Absorbância
1	32,80	32,68	0,180
2	31,80	32,70	0,180
3	33,00	31,94	0,181
Média	32,56 ± 0,86	32,44 ± 0,43	0,181
Café amarelo	UV-Vis (mg g ⁻¹)	App* (mg g ⁻¹)	Absorbância
1	30,67	30,29	0,150
2	30,67	30,46	0,150
3	30,96	29,93	0,151
Média	30,77 ± 0,17	30,23 ± 0,27	0,150
Café Verde	UV-Vis (mg g ⁻¹)	App* (mg g ⁻¹)	Absorbância
1	27,63	28,57	0,130
2	27,95	26,90	0,131
3	27,63	27,42	0,130
Média	27,79 ± 0,18	27,16 ± 0,85	0,130

Na Tabela 10, constam os valores de intensidades de cores obtidas na avaliação do poder de redução do café em diferentes estádios de maturação. Esses valores foram utilizados para determinar o sinal referente ao potencial redutor presente nos extratos de café avaliados. A seguir, tais valores foram substituídos na equação da curva analítica G ($y = 56,813x + 61,714$ $R^2 = 0,9928$) selecionada, anteriormente, para determinação do poder redutor nos extratos de café avaliados usando o Photometrix®.

Tabela 10 - Intensidades de cores obtidas nos canais RGB pelo aplicativo Photometrix® nos extratos de café em diferentes níveis de maturação

Café vermelho	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
1	196	192	167
2	176	174	171
3	183	182	171
Café amarelo	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
1	185	194	176
2	183	184	176
3	185	184	176
Café verde	Red (R)	Green (G)	Blue (B)
1	186	186	182
2	186	188	181
3	192	191	184

O café vermelho apresentou maior poder redutor ($32,44 \pm 0,43$ - App), embora a diferença não tenha sido significativa entre os estádios de maturação avaliados ($30,23 \pm 0,27$ e $27,63 \pm 0,85$ mg de antioxidante/g de café amarelo e verde, respectivamente). As propriedades antioxidantes do café têm sido relacionadas à presença dos ácidos clorogênicos (ESQUIVEL e JIMÉNEZ, 2012; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2014; STALMACH *et al.*, 2006). No entanto, deve-se considerar que o potencial antioxidante das espécies vegetais pode estar relacionado ao sinergismo de uma ampla variedade de compostos bioativos (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2008).

A atuação dos compostos fenólicos como antioxidantes ocorre por meio de do mecanismo de doação de hidrogênio e/ou transferência de elétrons para o radical livre, sendo assim chamado de sequestradores de radicais livres. O número de hidroxilas presentes nos compostos fenólicos, bem como sua localização, tem influência direta na sua atuação como antioxidante (BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

As ações antioxidantes como a captura de radicais livres, entre outras, são favorecidas por reações de oxirredução. Substâncias doadoras de elétrons podem reagir com espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, convertê-las em compostos mais estáveis e finalizar reações radicalares. Nesse sentido, é importante determinar o poder de redução de substâncias antioxidantes, ou seja, a capacidade que o composto químico tem de doar elétrons e ser oxidado, pois uma força redutora elevada pode indicar uma elevada atividade antioxidante (BERKER, 2007). O poder redutor está relacionado à capacidade de reduzir Fe^{3+} para Fe^{2+} , antioxidantes que atuam por transferência de hidrogênio, particularmente tiols e carotenoides, não serão determinados (ROGINSKY e LISSI, 2005).

Além do estágio de maturação, o grau de torrefação também influencia na atividade antioxidante. Os resultados da determinação da atividade antioxidante do em café, submetido a diferentes níveis de torrefação, realizada no presente estudo, estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Valores do poder redutor de acordo com a torrefação do grão de café

Café (torrefação clara)	UV-Vis (mg g ⁻¹)	App* (mg g ⁻¹)	Absorbância
1	53,67	53,62	0,220
2	53,42	52,85	0,222
3	53,67	53,62	0,220
Média	53,59 ± 0,14	53,36 ± 0,44	0,220
Café (torrefação média)	UV-Vis (mg g ⁻¹)	App* (mg g ⁻¹)	Absorbância
1	29,99	29,93	0,127
2	30,36	30,26	0,128
3	29,99	32,02	0,127
Média	30,11 ± 0,21	30,74 ± 1,12	0,127
Café (torrefação escura)	UV-Vis (mg g ⁻¹)	App* (mg g ⁻¹)	Absorbância
1	27,21	27,27	0,124
2	27,55	25,69	0,125
3	27,21	28,88	0,124
Média	27,32 ± 0,20	27,28 ± 1,60	0,124

Na Tabela 12, constam os valores de intensidades de cores obtidas na avaliação do poder de redução do café submetido à torrefação em diferentes níveis (clara, média e escura). Esses valores foram utilizados para determinar o sinal referente ao potencial redutor presente nos extratos de café avaliados. Assim como na avaliação do potencial redutor devido aos diferentes estádios de maturação, os sinais obtidos na avaliação do poder de redução nos diferentes tipos de torra de café foram substituídos na equação da curva analítica obtida no canal G ($y = 56,813x + 61,714$ $R^2 = 0,9928$), para determinação do poder redutor nos extratos de café avaliados usando o Photometrix®.

Tabela 12 – Intensidades de cores obtidas nos canais RGB pelo aplicativo Photometrix® nos extratos de café submetidos aos diferentes níveis de torrefação

Café (torrefação clara)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)	App (mg g ⁻¹)
1	146	142	147	53,62
2	146	144	148	52,85
3	147	142	147	53,62
Média	53,36 ± 0,44			
Café (torrefação média)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)	App (mg g ⁻¹)
1	184	193	175	29,93
2	182	183	174	30,26
3	180	181	172	32,02
Média	30,72 ± 1,12			
Café (torrefação escura)	Red (R)	Green (G)	Blue (B)	App (mg g ⁻¹)
1	184	183	181	27,27
2	185	187	182	25,69
3	191	190	179	28,88
Média	27,28 ± 1,60			

Na torrefação clara foi encontrado o maior valor de poder redutor ($53,36 \pm 0,44$ mg g⁻¹ de café – App), já nas torrefações média e escura os valores foram menores ($30,74 \pm 1,12$ e $27,28 \pm 1,60$ mg g⁻¹ de café – App, para torrefação média e escura, respectivamente). Os resultados expressos estão de acordo com Dos Santos *et al.* (2007), que também observaram, em seu trabalho, que as amostras de café com grau de torrefação claro foram as que apresentaram maior poder redutor.

Vários estudos relatam sobre o potencial antioxidante do café. Essa potencialidade está relacionada à composição química que muitas vezes é transformada e degradada durante o processo de torrefação. Dentre os compostos mais relatados na literatura, destacam-se os fenólicos, bem como os ácidos clorogênicos (VIGNOLI *et al.*, 2011). A relação entre o grau de torra do café e sua capacidade antioxidante varia de acordo com a espécie de café e condições da torrefação (SCHWARZ *et al.*, 2001). Segundo Narita e Inouye (2011), os ácidos fenólicos vão sendo progressivamente destruídos e transformados durante o processo de torrefação, originando produtos que podem exibir atividade antioxidante.

Outros pesquisadores também verificaram que a capacidade antioxidante da bebida preparada com grãos de café submetidos à torra foi o dobro daquela de grãos verdes não torrados (STALMACH, 2006). Apesar do aumento do poder redutor

com a torrefação, as amostras de grau escuro apresentaram menor poder redutor que as amostras com grau de torrefação claro, provavelmente devido ao diferente conteúdo de fenólicos nessas amostras, particularmente reduzidos após a torrefação (TRUGO e MACRAE, 1984). Esses resultados corroboram com os encontrados neste presente estudo. Além disso, a propriedade antitumoral de extratos de borra de café tem sido relatada na literatura (RAMALAKSHMI *et al.*, 2009).

5.6 - Aplicação do projeto como tema gerador no ensino médio

No dia 14 de maio de 2019 foi realizado uma aula de química com as turmas de segundo e de terceiro ano de ensino médio da escola EEEFM Juvenal Nolasco, com base neste trabalho.

Para o teste realizado com a bebida de café preparada, o aplicativo apresentou o gráfico com a curva analítica, em que o sinal mais sensível foi obtido pelo canal Green ($y = 7,587x + 53,723$, $R^2 = 0,977$). Essa prática facilitou a compreensão por parte dos alunos da importância da calibração para determinação de compostos em uma amostra, possibilitando a eles relacionar a coloração da amostra com sua concentração.

Após compreensão da metodologia a ser desenvolvida, partiu-se para a determinação dos compostos fenólicos, através das amostras de grãos de café em diferentes estádios de maturação (Figura 20), fornecidas pelos alunos, das quais foram preparados os extratos pelos mesmos, conforme Figura 21.



Figura 20 - Grãos de café colhidos pelos alunos em diferentes estádios de maturação



Figura 21 – Preparação do extrato por parte dos alunos

Na sequência utilizaram a solução de cloreto férrico para a determinação da concentração de flavonoides nas amostras, usando a cabine coletora de imagens e um celular Motorola G6 play, 13 MP de resolução, para captura das imagens digitais, conforme Figura 22.



Figura 22 - Cabine de coleta de imagem digital sendo utilizada pelos alunos

Depois de todo processo, foram apresentados aos alunos os resultados deste e de outros trabalhos, que demonstram que a maturação do grão e o processo de torrefação tem influência direta na concentração de flavonoides presentes no café. Então, os alunos relataram suas experiências sobre os processos de catação do café,

da escolha realizada pelas empresas que negociam este produto e com relação ao valor final pago por essas empresas ao produtor. Os alunos também relacionaram todo processo aos diferentes sabores que a bebida apresenta, de acordo com a maturação do grão de café e seu processo de torrefação. Eles disseram que já haviam percebido essa diferenciação, mas que não tinham conhecimentos teóricos mais elaborados para explicar tal observação.

Tal experiência foi enriquecedora, pois possibilitou uma interação maior por parte dos alunos, que se mostraram mais interessados em manipular todos os aspectos do experimento, em falar sobre suas experiências e mais curiosos em entender aspectos técnicos sobre o assunto em questão, relacionando teoria e prática, contextualizadas com o dia a dia dos estudantes.

A experiência também possibilitou uma atividade multidisciplinar, com a presença da professora de Biologia Valquíria Polastreli, que enriqueceu todo conhecimento sobre a estrutura vegetal, metabolismos primário e secundário das células vegetais e sobre o aspecto antioxidante e demais funções dos flavonoides nos seres humanos.

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, um novo método para determinação de composto fenólicos e da atividade antioxidante em café foi desenvolvido. Neste método, dois testes simples foram utilizados, para determinar fenólicos através da reação da quercetina com cloreto férrico e também para avaliar poder redutor envolvendo ferricianeto, BHT e cloreto férrico. Um CCD de celular foi usado como detector, assim como o canal G para análise de imagens.

Os resultados mostraram que o método é uma alternativa eficaz e econômica à determinação de compostos fenólicos e de poder redutor em café, dispensando a utilização de um aparelho espectrofotômetro. O método é simples, preciso e com reduzido consumo de amostras e de reagentes quando comparado a outros métodos tradicionais relatados na literatura, reduzindo, assim, o impacto ambiental.

Além disso, o método é perfeitamente aplicável em sala de aula com complemento ao estudo de reações químicas e sua inserção multidisciplinar nas disciplinas de Química, Física, Matemática e de Biologia.

7 - REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ (ABICA). **24 de maio: Dia Nacional do Café**. 2019. Disponível em: <<https://www.graogourmet.com/blog/24-de-maio-dia-nacional-cafe/>>, acesso em: 13 jun. 2019.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. **Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses**. Food Chemistry, v. 99, p. 191-203, 2006.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. **Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo**. Química Nova, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006

BENEDETTI, L.P.S.; DOS SANTOS, V.B.; SILVA, T.A.; BENEDETTI-FILHO, E.; MARTINS, V.L.; FATIBELLO-FILHO, O. **A digital image analysis method for quantification of sulfite in beverages**. Anal Methods v. 7, p. 7568–7573, 2015a.

BENEDETTI, L.P.S.; DOS SANTOS, V.B.; SILVA, T.A.; BENEDETTI-FILHO, E.; MARTINS, V.L.; FATIBELLO-FILHO, O. **A digital imagebased method employing a spot-test for quantification of ethanol in drinks**. Anal Methods v. 7, p. 4138-4144, 2015b.

BERKER, K.I.; GÜÇLÜ, K.; TOR, I.; APAK, R. **Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents**. Talanta, v. 72, n. 3, p. 1157-1165, 2007.

BRASIL, Ministério da Educação. **Parâmetros Curriculares Nacionais Ensino Médio (PCNEM)**, 2000.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Café no Brasil**, 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>>. Acesso em: 11 jun. 2019.

BRASIL, **Perspectivas para a agropecuária**. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). V. 3, Brasília, 2015.

CARVALHO, A.; MEDINA FILHO, H.P.; FAZUOLI, L.C.; GUERREIRO FILHO, O.; LIMA, M.M.A. **Aspectos genéticos do cafeeiro**. Revista Brasileira de Genética. 14: 135-183, 1991.

CLIFFORD, M. N. **Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism**. J. Sci. Food Agric., v. 80, n. 7, p. 1033-1043, 2000.

CORTEZ, J. G. **Efeito de espécies e cultivares e do processamento agrícola e industrial nas características da bebida do café**. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. P. 71, 2001.

DOS SANTOS, M.H.; BATISTA.; B.L.; DUARTE, M.S.D.; DE ABREU, C.M.P.; GOUVÊA, C.M.A.P. **Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café.** Quim. Nova, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

DUH, P.D. **Antioxidant activity of budrock (*Arctium lappa* Linn); Its scavenging effect on free radical and active oxygen.** Journal of the American Oil Chemists Society, v. 75, p. 455-461, 1998.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Café é a segunda bebida mais consumida no Brasil.** 2005. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2574254/cafe-e-a-segunda-bebida-mais-consumida-no-brasil/>>, acesso em: 10 dez. 2018, 18:35.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia.** ISSN 0103-9865, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Seis maiores estados produtores dos Cafés do Brasil atingiram 98% do volume da safra de 2017.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/31081641/seis-maiores-estados-produtores-dos-cafes-do-brasil-atingiram-98-do-volume-da-safra-de-2017>>, acesso em: 13 de jun. 2019, 09:24.

ENCARNAÇÃO, R.O.; LIMA, D.R. **Café & Saúde Humana.** Consórcio brasileiro de pesquisa e desenvolvimento do café. Empresa Brasileira de pesquisa agropecuária, ISSN 1678-1694, 2003.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. **Functional properties of coffee and coffee by-products.** Food Research International, Barking, v. 46, n. 2, p. 488-495, 2012.

EVANS, E.; GABRIEL, E.F.M.; BENAVIDEZ, T.E. **Modification of microfluidic paper-based devices with silica nanoparticles.** Analyst, v. 139, p. 5560-5567, 2014.

FAGGAN, E.B.; SOUZA, C.H.E.; PEREIRA, N.M.B.; MACHADO, V.J. **Efeito do tempo de formação do grão de café (*Coffea* sp) na qualidade da bebida.** Biosci. J., Uberlândia, v. 27, n. 5, p. 729-738, Sept./Oct. 2011.

FERREIRA, L.H.; HARTWING, D.R., OLIVEIRA, R.C. **Ensino Experimental de Química: Uma Abordagem Investigativa Contextualizada.** Revista Química Nova na Escola, v. 32, n. 2, p. 101-106, 2010.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. **Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde.** Alim. Nutr., Araraquara v.18, n.2, p. 229-235, 2007.

GARRUTI, R.S.; GOMES, A.G. **Influência do estágio de maturação sobre a qualidade da bebida do café na região do Vale do Paraíba.** Bragantia, Campinas, v. 20, p. 989- 995, 1961.

GAWLIK-DZIKI, U.; SWIECA, M.; DZIKI, D.; KOWALSKA, I.; PECIO, L.; DURAK, A.; SECZYK, L. **Lipoxygenase inhibitors and antioxidants from green coffee-mechanism of action in the light of potential bioaccessibility**. Food Research International, v. 61, p. 48-55, 2014.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Quim. Nova, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOTTELAND, M.; DE PABLO, S. **Some trues concerning coffee**. Rev. chil. nutr., Santiago, v. 34, n. 2, p. 105-115, 2007. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775182007000200002&lng=es&nrm=iso, acesso em: 13 jun. 2019.

HELPER G.A.; MAGNUS, V.S.; BÖCK, F.C.; TEICHMANN, A.; FERRÃO, M.F.; COSTA, A. B. **PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices**. J. Braz. Chem. Soc., v. 28, n. 2, p. 328-335, 2017.

HUBER, L.S. **Flavonóides: identificação de fontes brasileiras e investigação dos fatores responsáveis pelas variações na composição**. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos. Campinas, 2007.

INTARAVANNE, Y.; SUMRIDDETHKAJORN, S.; NUKEAW, J. **Cell phone-based two-dimensional spectral analysis for banana ripeness estimation**. Sensors Actuators, B Chem, v. 168, p. 390-394, 2012.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Coffee market report December 2016**. Disponível em: <<http://www.reportlinker.com/market-report/Soft-Jacques,A.C.>>. Acesso em: 11 dez. 2018, 19:10.

ZAMBIAZI, R.C. **Fitoquímicos em amora-preta (Rubus spp)**. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, n. 1, p. 245-260, 2016.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z.M.; FOONG, C.W. **Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables**. Food Chem., v. 87, p. 581-586, 2004.

KOHL, S.K.; LANDMARK, J.D.; STICKLE, D.F. **Demonstration of absorbance using digital color image analysis and colored solutions**. J Chem. Educ., v. 83, p. 644, 2006.

LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; BESSON, C.; SCALBERT, A.; J. **Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats**. Nutr., 136, 1192. Mellitus. Ann. Intern. Med., v. 1409, n.1, p. 1-8, 2006.

LOPEZ-MOLINERO, A.; LIÑAN, D.; SIPIERA, D.; FALCON R. **Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics**. Microchem J 96:380–385, 2010.

LYRA, W.S.; DOS SANTOS, V.B.; DIONIZIO, AGG. **Digital imagebased flame emission spectrometry.** Talanta, v. 77, p. 1584-1589, 2009.

LYRA, W.S.; DINIZ, P.H.G.D.; LEMOS, S.G. **Indirect determination of sodium diclofenac, sodium dipyrone and calcium gluconate in injection drugs using digital image-based (webcam) flame emission spectrometric method.** Anal Methods, v. 3, p. 1975-1980, 2011.

MACEDO DOS SANTOS, P; PEREIRA-FILHO, ER. **Digital image analysis— an alternative tool formonitoring milk authenticity.** AnalMethods, v. 5, p. 3669-3674, 2013.

MARTINS, D.; NUNEZ, C.V. **Secondary Metabolites from Rubiaceae Species.** Molecules, v. 20, p. 13422-13495, 2015.

MESSINA, G.; ZANNELLA, C.; MONDA, V.; DATO, A.; LICCARDO, D.; DE BLASIO, S.; CIBELLI, G. **The beneficial effects of coffee in human nutrition.** Biology and Medicine, v. 7, p. 1, 2015.

MONOŠÍK, R., DOS SANTOS, V.B.; ANGNES, L. **A simple paper-strip colorimetric method utilizing dehydrogenase enzymes for analysis of food components.** Anal Methods, v. 7, p. 8177–8184, 2015.

MONTEIRO, M.C.; TRUGO, L.C. **Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado.** Quim. Nova, v. 28, n. 4, p. 637-641, 2005.

MORAIS, S.A. L.; AQUINO, F.J.T.; NASCIMENTO, P.M.; NASCIMENTO, E.A.; CHANG, R. **Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra.** Quím. Nova [online], v. 32, n. 2, p. 327-331, 2009.

NARDINI, M.; CIRILLO, E.; SCACCINI, C. **Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption.** J. Agric. Food. Chem., v. 50, n. 20, p. 5735-5741, 2002.

NARITA, Y.; INOUE, K. **Inhibitory effects of chlorogenic acids from green coffee beans and cinnamate derivatives on the activity of porcine pancreas α -amylase isozyme I.** Food Chemistry, v. 127, p. 1532-1539, 2011.

NETO, G.F.S.; FONSECA, A.; BRAGA, J.W.B. **Classificação de Águas Minerais Baseada em Imagem Digitais Obtidas por Smartphone.** Quim nova, v. 39, n.7, p. 876-88, 2016.

OLIVEIRA, L.F.; CANEVARI, N.T.; JESUS, A.M.D.; PEREIRA-FILHO, E.R. **Uso de imagens digitais e Análise de Componentes Principais na identificação dos níveis de Cr (VI) em amostras de solos.** Revista Virtual de Química. Revista Virtual de Química, v. 5, p. 169, 2013.

OLTHOF, M.R.; HOLLMAN, P.C.H.; BUIJSMAN, M.N.C.P.; VAN AMELSVOORT, J.M.M.; KATAN, M.B. **Chlorogenic acid, quercitin-3-rutinoside and black tea**

phenols are extensively metabolized in humans. J. Nutr., v. 133, n. 6, p. 1806-1814, 2003.

OLTHOF, MR; HOLLMAN, PC; KATAN, MB. **Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans.** J. Nutr., v. 131, n.1, p. 66-71, 2001.

PACIORNIK, S.; YALLOUZ, A.V.; CAMPOS, R.C.; GANNERMAN, D. **Scanner image analysis in the quantification of mercury using spot-tests.** J Braz Chem Soc v. 17, p. 156–161, 2006.

PANUSA, A.; ZUORRO, A.; LAVECCHIA, R.; MARROSU, G.; PETRUCCI, R. **Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 61, p. 4162-4168, 2013.

PARLIAMENT, T.H. **An overview of coffee roasting.** In: PARLIAMENT, T.H.; CHITANG, H.; SCHIBERLE, P. (Ed.) **Caffeinated beverages: health benefits, physiological effects and chemistry.** Washington, DC: American Chemical Society, p.188-201. (ACS Symposium Series, 754), 2000.

PAVARINI, D.P.; PAVARINI, S.P.N.; MICHAEL; L.N.P. **Exogenous influences on plant secondary metabolite levels.** D.P. Pavarini et al. / Animal Feed Science and Technology, v. 17, p. 5-16, 2012.

PAQUET-DURAND, O.; SOLLE, D.; SCHIRMER, M. **Monitoring baking processes of bread rolls by digital image analysis.** J Food Eng., v. 111, p. 425–431, 2012.

PEREIRA, D.M.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, J.A.; ANDRADE, P.B. **Phenolics: From Chemistry to Biology.** Molecules, v.14, p.2202-2211, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F. **Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results.** Food Research International, v. 41, p. 272-285, 2008.

PETERS, K.L.; CORBIN, I.; KAUFMAN, L.M. **Simultaneous colorimetric detection of improvised explosive compounds using microfluidic paper-based analytical devices (μPADs).** Anal Methods, v. 7, p. 63–70, 2015.

POZO, J.I. (Org.). **A solução de problemas.** Porto Alegre: Artmed, 1998.

RAMALAKSHMI, K.; RAO, L.J.M.; TAKANO-ISHIKAWA, Y.; GOTO, M. **Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems.** Food Chemistry, London, v. 115, n. 1, p. 79-85, 2009.

RAUDONEA, L.; RAUDONISA, R.; LIAUDANSKASA, M.; JANULIS, V.; VISKELIS, P. **Phenolic antioxidant profiles in the whole fruit, flesh and peel of apple cultivars grown in Lithuania.** Scientia Horticulturae, v. 216, p. 186-192, 2017.

ROGINSKI, V.; LISSI, E.A. **Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food.** Food Chemistry, v. 92, p. 235-254, 2005.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; FILHO, J.M.; MOREIRA, A.V.B. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas no Sistema β -caroteno/Ácido Linoléico.** Comunicado técnico online, ISSN 1679-6535, Fortaleza, 2006.

SALAZAR-MARTINEZ, E.; WILLET, W.C.; ASCHERIO, A.; MANSON, J.E.; LEITZMANN, M.F.; STAMPFER, M.J.; HU, F.B. **Coffee consumption and risk for type 2 diabetes.** A systematic review, janeiro, 2004.

SANDHAR, H.; KUMAR, B.; PRASHER, S.; TIWARI, P.; SALHAN, M.; SHARMA, P.A. **Review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids.** Internationale Pharmaceutica Sciencia, v. 1, p. 25-41, 2011.

SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L.R.; GARDNER, P.T.; HEINONEN, M.I.; T., HOPIA, A.; LAMBELET, P.; MCPHAIL, D.; SKIBSTED, L.H.; TIJBURG, L. **Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds.** Eur. Food Res. Technol., v. 212, n. 3, p. 319-328, 2001.

SENA, R.C.; SOARES, M.; PEREIRA, M.L.O. **A simple method based on the application of a CCD camera as a sensor to detect low concentrations of barium sulfate in suspension.** Sensors, v. 11, p. 864–875, 2011.

SOUZA, G.S.; SILVA, S.A.; LIMA, J.S.S.; FILHO, A.C.V.; INFANTINI, M.B.; KROHLING, C.A. **Avanços na mecanização do cafeeiro conilon.** Incaper em Revista, Vitória, v. 9, p. 31-41, jan/dez 2018. ISSN 2179-5304, 2018.

SOUZA, C. J.; PEZZA, H.R.; PEZZA, L. **A simple and green analytical method for determination of copper (II) in whisky and sugarcane spirit by diffuse reflectance spectroscopy.** Anal. Methods, v. 8, p. 1867-1875, 2016.

SOROURADDIN, M.; SAADATI, M.; MIRABI, F. **Simultaneous determination of some common food dyes in commercial products by digital image analysis.** J Food Drug Anal., v. 23, p. 447-452, 2015.

STALMACH, A.; MULLEN, W.; NAGAI, C.; CROZIER, A. **On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee.** Braz. J. Plant. Physiol., v. 18, n. 1, p. 253-262, 2006.

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J.N. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos.** Unopar, Cient. Ciênc. Biol. Saúde, v. 14, p. 263-9, 2012.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal.** Trad. SANTARÉM, E. R. et al., 3º ed., Porto Alegre: Artemed, 719, 2004.

TORRES, A.R.; LYRA, W.S.; ANDRADE, S.I.E.; ANDRADE, R.A.N.; SILVA, E.C.; ARAUJO, M.C.U.; GAIAO, E.N.A. **Digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid - base titration without indicator.** Talanta, v. 84, p. 601-606, 2011.

TRUGO, L.C.; MACRAE, R. **Cholorogenic acid composition of istant coffees.** Analyst, 109:263-266, 1984.

VIGNOLI, J.A.; BASSOLI, D.G.; BENASSI, M.T. **Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material.** Food Chemistry, Oxford, v. 124, n. 2, p. 863-868, 2011.

YANG, L.; YANG, C.; LI, C.; ZHAO, Q.; LIU, L.; FANG, X.; CHEN, X. **Recent advances in biosynthesis of bioactive compounds in traditional Chinese medicinal plants.** Science Bulletin, v. 61, n. 1, p. 3–17, 2016.

YEN, G.C.; CHEN, H.Y. **Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity.** Food Chem., v. 43, p. 27-32, 1995.

ZERAIK, A.E.; SOUZA, F.S.; FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O.D. **Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação.** Quim. Nova, v. 31, n. 4, p. 731-734, 2008.

8 - APÊNDICE

Apêndice A – Cabine coletora de dados.

