

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

DANIELE ALVES MARINHO

**RELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O PERFIL DE
PROTEÍNAS DE GRÃOS DE CAFÉ CONILON COM A QUALIDADE
DA BEBIDA**

VILA VELHA

2023

DANIELE ALVES MARINHO

**RELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O PERFIL DE
PROTEÍNAS DE GRÃOS DE CAFÉ CONILON COM A QUALIDADE
DA BEBIDA**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia Vegetal.

VILA VELHA

2023

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

M337r

Marinho, Daniele Alves.

Relação entre a composição química e o perfil de proteínas de grãos de café conilon com a qualidade da bebida / Daniele Alves Marinho. – 2023.

145 f. : il.

Orientador: Rodrigo Scherer.

Tese (Doutorado em Biotecnologia vegetal) – Universidade Vila Velha. 2023.

Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia vegetal. 2. Nutrição - Análise. 3. Melhoramento genético. I. Scherer, Rodrigo. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 660.603

RELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E O PERFIL DE PROTEÍNAS DE GRÃOS DE CAFÉ CONILON COM A QUALIDADE DA BEBIDA

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 31 de Janeiro de 2023.

Banca Examinadora:



Prof.º Dr. Márcio Fronza – (UVV)
Documento assinado digitalmente
gov.br MARIA AMELIA GAVA FERRÃO
Data: 19/03/2024 20:36:17-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.ª. Dra. Maria Amélia Gava Ferrão – (Incaper/Embrapa)
Documento assinado digitalmente
gov.br VANESSA MOREIRA OSÓRIO
Data: 14/03/2024 16:34:11-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.ª. Dra. Vanessa Moreira Osório – (UFES)


Prof.º Dr. Rodrigo Scherer – (UVV)
Orientador

À minha pequena família, Cristiano e Angelina,
dedico.

AGRADECIMENTOS

É claro que existem os céticos, mas a verdade é que ninguém faz nada sozinho. Nossa vida é uma sucessão de acontecimentos que envolvem muitas pessoas, desde antes de nosso nascimento, até o último fechar de olhos, quando passaremos somente a fazer parte desse grupo de pessoas envolvido em uma sucessão de acontecimentos na vida de nossos descendentes, amigos, vizinhos, alunos, parentes...

“O indivíduo floresce quando o individualismo morre”, e é por isso que “podemos ver mais longe estando sobre os ombros de gigantes”. “Ninguém educa ninguém, ninguém educa a si mesmo, as pessoas se educam entre si, mediatizadas pelo mundo”. Por isso agradeço a oportunidade de realizar esse trabalho, e ter conhecido pessoas que me fazem florescer. Agradeço ao sacrifício da minha família de origem para me apoiar em muitos momentos, e à paciência e apoio de meu marido, Cristiano, e nossa filha, Angelina. Agradeço aos amigos do Labcrom, Arthur, Fernandinho, Karla, Lian, Mayara, Thiago, Matheus, Camile, Leandra, Mari, a caçula, e aos amigos e colegas de outros laboratórios da UENF e da UVV, em especial a Deborah e Amanda. Agradeço ao meu orientador, prof. Dr. Rodrigo Scherer, que é muito melhor do que me disseram, rs, obrigada pela paciência em me ensinar a pesquisa em uma área diferente da minha. Agradeço ao meu coorientador, profº Dr. Vanildo, e a seus alunos Felipe e Vítor, com quem espero aprender ainda mais. Agradeço aos professores do PPGBV, aos funcionários da UVV e da UENF que nos auxiliam em nossos problemas, especialmente à Ana Cláudia, Sílvia e Edson. Agradeço ao Incaper e aos seus funcionários, que aceitaram ser nossos parceiros nessa pesquisa, em especial à Dra. Maria Amélia, pesquisadora experiente e um grande ser humano. Agradeço à FAPES, um órgão de extrema importância para a pesquisa capixaba, que financiou esse projeto. Agradeço ao Instituto Federal do Espírito Santo (IFES Campus Guarapari), que custeou todo meu período de afastamento para a realização desse doutorado, órgão que eu tenho a felicidade de integrar, e que dá a seus servidores a possibilidade de se aperfeiçoar e retornar, para ajudar outros a florescerem também.

Esta tese foi feita durante a pandemia de COVID-19, quando, somente no Brasil, perdemos mais de 600.000 pessoas. Agradeço ao esforço conjunto de pesquisadores, trabalhadores da saúde, servidores públicos e trabalhadores de

empresas privadas, artistas e produtores de conteúdo on-line, de todo o mundo, que demonstraram que nossa espécie é melhor e sobrevive quando agimos coletivamente.

MARINHO, D. A., Ms., Universidade Vila Velha - ES, janeiro de 2023. **Relação entre a composição química e o perfil de proteínas de grãos de café conilon com a qualidade da bebida.** Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Scherer. Co-orientador: Prof. Dr. Vanildo Silveira.

RESUMO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, e um produto muito importante para a economia de países em desenvolvimento. Por muito tempo as pesquisas na área de melhoramento genético da cultura se concentraram em características agrônômicas como produtividade, resistência a estresses bióticos e abióticos e uniformidade de maturação. Nas últimas duas décadas, a qualidade da bebida passou a ser estudada também no melhoramento genético e em áreas correlatas, visto ser uma característica multifatorial, influenciada pelo ambiente, pelo processamento pré e pós-colheita e pelo genótipo. Recentemente, com o avanço de ferramentas das áreas de química analítica e “ômicas”, diferentes pesquisas têm sido implementadas. Este trabalho objetiva estudar a composição química não-volátil e o perfil proteômico de grãos de café de materiais genéticos do programa de melhoramento do Incaper, na identificação de possíveis marcadores químicos e biológicos relacionados à melhor qualidade da bebida. Inicialmente foi realizada uma revisão sistemática da literatura em busca de possíveis biomarcadores da qualidade da bebida café já descobertos, retornando 44 artigos. Essa revisão possibilitou observar que a maioria dos trabalhos se concentram em marcadores moleculares do metabolismo de carboidratos, cafeína e ácidos clorogênicos, e há uma lacuna nos marcadores das vias de lipídios. Na sequência, foram realizadas análises da composição química e da atividade antioxidante de três genótipos de café conilon de diferentes épocas de maturação (clones D101, J205, C306, componentes das cultivares Diamante, Jequitibá e Centenária, respectivamente) e uma cultivar de café arábica (Catuai Vermelho IAC81), oriundas de amostras coletadas em três estágios de maturação. Ou seja, com 60, 80 e 100% de frutos maduros. Os genótipos D101 e J205 tiveram as maiores atividades antioxidantes. Catuai Vermelho AC 81 e C306 as maiores notas globais na análise sensorial e se correlacionaram com os demais atributos. Os resultados sugerem que o genótipo prevalece sobre todas as variáveis analisadas, tanto em relação à atividade antioxidante, quanto à qualidade da bebida. Na safra 2021 avaliou-se 10 genótipos de café conilon quanto à qualidade sensorial, as médias globais variaram de 78,75 a 80,38. Os de maior e menor pontuação foram estudados quanto ao perfil proteômico “label-free” D105 e J205, respectivamente. Para tal, utilizou-se os grãos dos frutos colhidos na fase verde expandido (início da maturação) e cereja (maduro). A via glicolítica e de biossíntese de ácidos graxos foi down-acumulada em D105 na fase de maturação verde expandido, e proteínas de resistência ao estresse oxidativo e biossíntese de aminoácidos e de metabólitos secundários foram up-acumuladas. No estágio de maturação cereja permaneceram down-acumuladas em D105 a via glicolítica e de reação a estímulos, como tubulinas e chaperonas, e foram up-acumuladas as proteínas da via de biossíntese do amido e da sacarose, e de metabólitos secundários. Os resultados conjuntos mostraram que as maiores notas sensoriais de D105, se devem a uma maior força de dreno, responsável pelo maior acúmulo de reservas de carboidratos e aminoácidos, maior produção de metabólitos secundários e de proteínas de resistência a estresse

oxidativo, que poderia alterar as reservas acumuladas, precursoras do aroma e sabor da bebida.

Palavras-chave: café; qualidade sensorial; composição química; proteômica; Conilon.

MARINHO, D. A., Ms., Vila Velha University - ES, January 2023. **Relationship between the chemical composition and the protein profile of conilon coffee beans with the quality of the beverage.** Advisor: Prof. PhD Rodrigo Scherer. Co-advisor: Prof. PhD Vanildo Silveira.

ABSTRACT

Coffee, a globally cherished beverage, significantly impacts the economies of developing nations. Traditionally, research on crop genetic enhancement prioritized agronomic traits like productivity, resistance to biotic and abiotic stressors, and maturation uniformity. However, the past two decades have witnessed an increased focus on the quality of the coffee beverage, a complex trait influenced by environmental factors, pre- and post-harvest processing, and genotype. Recent studies have explored the non-volatile chemical composition and proteomic profile of coffee beans to identify potential chemical and biological markers of superior coffee quality. An initial systematic literature review yielded 44 articles, revealing a concentration of molecular markers of carbohydrate, caffeine, and chlorogenic acid metabolism, with a noticeable absence of lipid pathway markers. Subsequent analyses of the chemical composition and antioxidant activity were conducted on three Conilon coffee genotypes at different maturation stages and one Arabica coffee cultivar. The findings underscored the genotype's significant role in determining the drink's antioxidant activity and quality. Genotypes D101 and J205 exhibited the highest antioxidant activities, while Catuai Vermelho AC 81 and C306 scored the highest in sensory analysis. In the 2021 harvest, ten Conilon coffee genotypes were evaluated for sensory quality, with global averages ranging from 78.75 to 80.38. The genotypes with the highest and lowest scores, D105 and J205 respectively, were further studied for their 'label-free' proteomic profile. The study revealed that D105's higher sensory notes could be attributed to a greater drain force, leading to an increased accumulation of carbohydrate and amino acid reserves, enhanced production of secondary metabolites, and proteins resistant to oxidative stress. These factors could modify the accumulated reserves, which are precursors to the aroma and flavor of the beverage. In conclusion, this research provides valuable insights into the complex interplay of genetic and environmental factors that contribute to coffee quality, paving the way for future advancements in coffee genetic improvement.

Keywords: coffee; sensory quality; chemical composition; proteomics; Conilon.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, QUADROS E TABELAS

REF _Ref162436691 \h * MERGEFORMAT Quadro 1 - estudos selecionados segundo o fluxograma prisma. PAGEREF _Ref162436691 \h 27

Figura 1 — fluxograma prisma para seleção dos estudos (PRISMA = Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses).....26

Tabela 1 — composição centesimal, atividade antioxidante, compostos fenólicos totais (TPC) e análise sensorial de amostras de café.....104

Tabela 2 — composição elementar das amostras de café (mg/kg).....106

Tabela 3 — conteúdo de cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos das amostras de café (g/100g).....108

Figura 2 — análise fatorial de dados mistos (FAMD).....109

Figura 3 - FAMD mostrando a posição das variáveis preditoras.....110

Tabela 4 — notas das análises sensoriais dos genótipos selecionados em conjunto com o Incaper.....135

Tabela 5 — principais proteínas diferencialmente acumuladas nos genótipos 5 e 14 em grãos de frutos verde expandidos e maduros (cerejas), na comparação 5/14.....136

Figura 4 — volcano plots e gráfico de venn, comparando os genótipos 14 e 5 o mesmo grau de maturação.....138

Figura 5 - análise do número de sequências KEGG.....139

Figura 6 — rede de interação proteína-proteína (IPP) entre proteínas down-acumuladas em relação ao genótipo 14, e únicas do genótipo 14, no estágio verde expandido.....140

Figura 7 — rede de interação proteína -proteína (ipp) entre proteínas up-acumuladas e únicas do genótipo 5 em relação ao genótipo 14 no estágio verde expandido.....141

Figura 8 — rede de interação proteína -proteína (ipp) entre proteínas down-acumuladas do genótipo 5 em relação ao genótipo 14, e únicas do genótipo 14, no estágio cereja (100% maduro).....142

Figura 9 — rede de interação proteína-proteína (IPP) entre proteínas up-acumuladas e únicas do genótipo 5 em relação ao genótipo 14 no estágio cereja (100% maduro).....143

SUMÁRIO

TOC \h \o "1-2"HYPERLINK "" \l "_Toc162404751"1.....	INTRODUÇÃO
PAGEREF _Toc162404751 \h 11	
2	OBJETIVOS.....16
2.1	OBJETIVO GERAL.....16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....16
3	CAPÍTULO 1 – FATORES QUE INFLUENCIAM A QUALIDADE
	SENSORIAL DA BEBIDA CAFÉ.....18
3.1	ARTIGO 1: COMPOSIÇÃO DE GRÃOS DE CAFÉ RELACIONADA À
	QUALIDADE DA BEBIDA – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA NA PERSPECTIVA
	DO MELHORAMENTO.....23
3.1.1	INTRODUÇÃO.....24
3.1.2	MÉTODO.....26
3.1.3	RESULTADOS.....27
3.1.4	DISCUSSÃO.....36
3.1.4.1	METABOLISMO PRIMÁRIO.....36
3.1.4.1.1	<i>Carboidratos.....36</i>
3.1.4.1.2	<i>Lipídios.....44</i>
3.1.4.1.3	<i>Proteínas.....47</i>
3.1.4.2	METABOLISMO SECUNDÁRIO.....50
3.1.4.2.1	<i>Metilxantinas.....51</i>
3.1.4.2.2	<i>Ácidos clorogênicos.....55</i>
3.1.4.2.3	<i>Diterpenos.....58</i>
3.1.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....61
4	CAPÍTULO 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA NÃO-VOLÁTIL DO GRÃO E
	SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE DA BEBIDA.....76
4.1	ARTIGO 2: A QUALIDADE DA BEBIDA E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
	DO CAFÉ SÃO INFLUENCIADAS PRINCIPALMENTE PELO GENÓTIPO E NÃO
	PELA MATURAÇÃO.....77
4.1.1	INTRODUÇÃO.....79
4.1.2	MÉTODOS.....81
4.1.2.1	AMOSTRAS DE CAFÉ.....81
4.1.2.2	AVALIAÇÕES SENSORIAIS, QUÍMICAS E DE ATIVIDADES
	ANTIOXIDANTE.....82
4.1.2.2.1	<i>Análise sensorial.....82</i>
4.1.2.2.2	<i>Composição centesimal.....83</i>
4.1.2.2.3	<i>Composição fenólica total.....83</i>
4.1.2.2.4	<i>Sequestro do radical livre DPPH.....83</i>
4.1.2.2.5	<i>Sequestro do radical livre ABTS.....84</i>
4.1.2.3	ANÁLISE ELEMENTAR POR ICP-MS.....84
4.1.2.4	ANÁLISE DE CAFEÍNA, TRIGONELINA E ÁCIDOS CLOROGÊNICOS
	POR UHPLC-DAD.....85

4.1.2.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	85
4.1.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
4.1.4	CONCLUSÕES	94
5	CAPÍTULO 3 – PERFIL PROTEÔMICO E QUALIDADE DA BEBIDA CAFÉ	109
5.1	ARTIGO 3: A QUALIDADE SENSORIAL DA BEBIDA CAFÉ DE COFFEA CANEPHORA VAR CONILON É REFLETIDA NA EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE SUAS PROTEÍNAS.....	109
5.1.1	INTRODUÇÃO	111
5.1.2	MATERIAIS E MÉTODOS	113
5.1.2.1	AMOSTRAS DE CAFÉ.....	113
5.1.2.2	ANÁLISE SENSORIAL.....	114
5.1.2.3	ANÁLISE PROTEÔMICA.....	115
5.1.2.3.1	<i>Extração das proteínas</i>	115
5.1.2.3.2	<i>Digestão das proteínas</i>	115
5.1.2.3.3	<i>Análise de espectrometria de massa</i>	116
5.1.2.4	ANÁLISES DOS DADOS.....	117
5.1.3	RESULTADOS	118
5.1.3.1	ANÁLISE SENSORIAL.....	118
5.1.3.2	ANÁLISE PROTEÔMICA.....	118
5.1.3.2.1	<i>Proteínas diferencialmente acumuladas entre os estágios de maturação...</i>	118
5.1.3.2.2	<i>Proteínas únicas para os genótipos 5 e 14</i>	119
5.1.3.2.3	<i>Classificação funcional das proteínas diferencialmente acumuladas e interação proteína-proteína (IPP)</i>	120
5.1.4	DISCUSSÃO	121
5.1.5	CONCLUSÃO	123
6	CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	141
	REFERÊNCIAS	143
	ANEXO A — Subtítulo do anexo.....	Erro: Origem da referência não encontrada

1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro é uma planta de origem africana com uma história milenar repleta de lendas. Das 124 espécies listadas do gênero *Coffea* (David *et al.*, 2012), *Coffea arabica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café conilon e robusta) são responsáveis por quase todo o café produzido no mundo (Ferrão *et al.*, 2019). As duas espécies diferem em relação aos aspectos agronômicos, bioquímicos e sensoriais, bem como no mercado e uso dos respectivos produtos, sendo consumidos de diversificadas formas, como bebidas quentes e frias, cappuccino, café expresso, café solúvel, cápsulas, entre outros. com crescimento constante nos últimos anos e na ordem 2,2% (Ferrão *et al.*, 2019; ICO, 2019).

O café arábica tem origem na Etiópia, mas a evidência mais antiga de cultivo é no atual Iêmen, antes do século XV. O primeiro contato com os europeus foi em 1615, chegou à América do Norte em 1668 e foi introduzido na América pelos holandeses através da colônia do Suriname em 1718. Em 1899, os holandeses o levaram a lugares na Índia, atual Indonésia. Chegou ao Brasil da Guiana Francesa em 1727, introduzido pelo estado do Pará e depois foi para o Maranhão e regiões sudeste e sul do Brasil (Ferrão *et al.*, 2019). *C. canephora*, representada pelas variedades Robusta e Conilon, se originou na região de Guiné, na bacia do Congo. O café conilon tem seu nome derivado do rio Kouillou no Congo, ou do rio Kwilu na República Democrática do Congo (anteriormente Zaire), e foi introduzido no Brasil pelo estado do Espírito Santo (CONAB, 2022; Ferrão *et al.*, 2019; ICO, 2019).

O mercado externo se refere aos cafés robusta e conilon como um só, denominado robusta, no entanto são materiais genéticos com características distintas. O café robusta é caracterizado por ter porte maior e hábito de crescimento ereto, caules maiores e menos ramificados, folhas maiores com uma cor verde mais intensa, frutos maiores, com mais mucilagem e com amadurecimento mais tardio, plantas mais vigorosas, mais tolerantes à ferrugem (*Hemileia vastatrix*) e com menor tolerância à seca (Ferrão *et al.*, 2019). O conilon apresenta planta de crescimento arbustivo, com caules mais ramificados, folhas menores, mais alongadas e de cor verde claro, frutos menores com menor mucilagem e amadurecimento mais precoce, alto potencial de produção, maior suscetibilidade à ferrugem e maior tolerância à seca quando comparada ao grupo anterior (Ferrão *et al.*, 2019).

O Brasil é o maior produtor de café do mundo, com uma produção estimada de 64,3 milhões de sacas de 60 kg no ano safra 2022/2023 (USDA, 2022a). O Vietnã, o segundo maior produtor, teve uma produção estimada de 29,75 milhões de sacas (USDA, 2023). A Colômbia, em terceiro lugar, manteve sua produção em 13 milhões de sacas (USDA, 2022b). A Indonésia, o quarto maior produtor, teve um aumento na produção de 11,35 milhões de sacas (USDA, 2022d). A Etiópia, por sua vez, teve uma produção estimada de 8,25 milhões de sacas (USDA, 2022c). Neste cenário, *C. canephora* representa 35% da produção de café brasileira, com uma área plantada de 425.846 hectares (ha) produzindo 17.716.000,4 sacas beneficiadas anualmente, sendo o Espírito Santo é maior produtor nacional desta espécie. (CONAB, 2022).

Muitos estudos apontam sobre os benefícios do consumo de café de qualidade para a saúde humana (ICO, 2019). Beber café, mesmo uma xícara por dia, foi associado a um risco reduzido de mortalidade por todas as causas, e especificamente de derrame vascular cerebral (DVC), doenças infecciosas, digestivas, síndromes metabólicas e à diminuição da frequência cardíaca de repouso (Freedman *et al.*, 2012; Nohara-Shitama *et al.*, 2019; Yamakawa *et al.*, 2019). Esses benefícios são atribuídos à capacidade da composição química da bebida em combater o estresse oxidativo (Lemos *et al.*, 2022; Narita; Inouye, 2015).

Esse grão produzido nas regiões tropicais do planeta, que sustenta milhões de cafeicultores em todo o mundo e cuja a bebida é consumida pela humanidade há séculos, poderá ter sua produção impactada pelas mudanças climáticas (ICO, 2019). Pesquisas indicam que a área de plantio em algumas regiões poderá ser reduzida em mais de 50%, bem como a qualidade da bebida (Bunn; Castro; Lundy, 2018; Davis *et al.*, 2019; Gomes *et al.*, 2020). Países produtores vêm discutindo e pesquisando estratégias importantes de pesquisas para mitigar os efeitos do clima e para garantir a sustentabilidade da atividade.

No Brasil, o Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café - CBP&D/Café (Consórcio Pesquisa Café), coordenado pela Embrapa Café, é responsável por executar o “Programa Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – PNP&D/Café”, sendo este o maior do mundo (Consórcio Pesquisa Café, 2022). O Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), uma das instituições fundadoras do consórcio, iniciou o programa de melhoramento genético de *Coffea canephora* em 1985, com diferentes linhas e

estratégias de pesquisa. Como resultado aplicado para os produtores, foram desenvolvidas e disponibilizadas 10 cultivares clonais e duas de propagação por sementes (Ferrao et al., 2021). As últimas cinco cultivares apresentam além de potencial produtivo, tolerância a seca e características agronômicas relevantes, qualidade de bebida.

Vale destacar, que a qualidade de bebida, é fator prioritário no programa de melhoramento e vem sendo investigado em diferentes projetos, coordenados por diferentes equipes e instituições, por meio de pesquisas colaborativas e multidisciplinares.

O presente trabalho é fruto da parceria entre o Incaper, a Universidade Vila Velha (UVV), a Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) e o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (Ifes).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho objetiva estudar a composição química não-volátil e o perfil proteômico de grãos de café. de materiais genéticos do programa de melhoramento do Incaper, na identificação de possíveis marcadores químicos e biológicos relacionados a melhor qualidade de bebida.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo 1: Analisar e quantificar a composição química não volátil de grãos verdes e torrados de genótipos de café do programa de melhoramento do Incaper, sua atividade antioxidante e qualidade sensorial.

- Revisar na literatura a composição química de diferentes genótipos já estudados, com foco em *Coffea canephora*.
- Definir os genótipos para o trabalho em conjunto com melhoristas do Incaper
- Colheita das amostras de trabalho em campo, processamento, secagem e preparo.
- Separação das amostras em duas partes, para análises sensoriais e químicas.
- Realizar a avaliação sensorial.
- Preparar as amostras para as análises de composição química: moer, peneirar e armazenar a -20°C para retardar a oxidação das substâncias do grão;
- Analisar quantitativamente o percentual de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, e carboidratos;
- Analisar quantitativamente a atividade antioxidante dos grãos pelos métodos ABTS, DPPH e a composição fenólica total;
- Analisar quantitativamente o conteúdo de cafeína, trigonelina e ácidos clorogênicos;
- Analisar quantitativamente o teor de metais e metalóides.

Objetivo 2: Analisar qualitativa e quantitativamente o perfil proteômico do endosperma de grãos de frutos nas fases de maturação verde expandido e cereja (100% maduros), de dois genótipos contrastantes.

- Selecionar, junto aos melhoristas do Incaper e com auxílio dos resultados obtidos após o cumprimento do objetivo 1, 10 genótipos relevantes e potencialmente contrastantes na análise sensorial da safra 2021 para a análise proteômica.
- Coletar os frutos dos genótipos selecionados em dois estágios de maturação, verde expandido e cereja, e armazenar a -20°C até a análise;
- Extrair, digerir e analisar o perfil protéico das amostras em um UPLC/MS;
- Processar os dados de proteômica verificando as proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) e únicas em dois genótipos contrastantes, dos conjuntos de 10 genótipos estudados. ;
- Realizar análises das vias KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) e de ontologia genética (GO) das vias metabólicas mais representativas do perfil proteômico das amostras;
- Realizar análises de interação proteína-proteína (IPP) das proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) e únicas nos dois genótipos analisados.

3 CAPÍTULO 1 – FATORES QUE INFLUENCIAM A QUALIDADE SENSORIAL DA BEBIDA CAFÉ

O comércio e o consumo do café giram em torno de suas características de qualidade de xícara, e essas características organolépticas são altamente multifatoriais. Elas dependem tanto do manejo pré-colheita, como a adubação, irrigação e aplicação de agrotóxicos, quanto do processamento pós-colheita, como a microbiota e condições de fermentação do grão, torra e todas as suas variáveis, moagem, formas de preparo da bebida, e de fatores abióticos, como o clima, além do próprio genótipo do café (HAMEED et al., 2018).

Uma das preocupações recentes é com o aumento da insolação em regiões produtoras no contexto das mudanças climáticas. Pesquisas no mundo todo buscam alternativas para esse problema, uma delas são os sistemas agroflorestais (SAF), que podem conciliar a produção de café com as áreas de conservação da natureza e atuar como um tampão de fronteira entre as áreas agrícolas de manejo mais intensivo e essas áreas (Gomes et al., 2020). No Brasil, em um SAF de café robusta com as espécies florestais *Gliricidia sepium* e *Inga edulis*, os compostos responsáveis por destacar a qualidade sensorial das amostras foram principalmente os ácidos clorogênicos (Correia et al., 2020). Os SAFs contribuem com o teor de matéria orgânica do solo, e mesmo com baixa disponibilidade de fósforo produzem cafés especiais, com pontuação de 80 a 84 no Peru (Márquez et al., 2020). Apesar dessas vantagens, assim como na monocultura, os atributos e nuances sensoriais são modificados pelos anos de colheita e não conseguem evitar o efeito da bienalidade nos SAFs (Freitas et al., 2021). Esse efeito é a variação sazonal entre o alto e o baixo rendimento alternado do cafeeiro ano após ano. É um evento fisiológico que afeta principalmente a produtividade do café arábica (Carvalho et al., 2020).

Existem poucos estudos sobre a influência do modo de colheita, da poda, do espaçamento de plantio do cafeeiro e da aplicação de pesticidas sobre a qualidade da bebida. Segundo Kazama et al. (2020), em um estudo feito no Brasil, há dependência espacial para produção e maturação de frutos de café. O terço superior de um cafeeiro apresenta variabilidade espacial diferente em relação aos terços médio e inferior. A colheita do terço superior produziu melhor qualidade de bebida e menos café, mas não cobriu os custos operacionais, no entanto, no estudo de

Cheng et al. (2020) realizado na Austrália, com *C. arabica* assim como o de Kazama et al., o dossel inferior produziu grãos de café de alta qualidade com aroma de café mais intenso (melhoria na qualidade organoléptica do café) associado a um melhor acúmulo de sacarose, trigonelina e cafeína no grão. O aumento de componentes químicos em grãos no dossel inferior foi associado a um período mais longo de acúmulo e aumento da expressão de genes candidatos nas vias metabólicas da trigonelina (*CTgS2*) e da sacarose (*CIN*, *SPS2_2*, *SPS1*, *SUS2_2*, *VINI_2* e *VIN_2*).

Alguns estudos sugerem que a poda e o espaçamento não interferem significativamente nessa qualidade, exceto pelo fato de tornar os frutos com a maturação mais homogênea, aumentando o número de frutos cereja, o que é relacionado a uma maior qualidade da bebida segundo a literatura (GRACIANO et al., 2019; ASSIS et al., 2018; PEREIRA et al., 2007). Porém, é possível que a aplicação de pesticidas influencie a nota sensorial dos cafés. O herbicida “Roundup”, cujo princípio ativo é o glifosato, é capaz de provocar a redução nos teores foliares de N, P, K, Cu, Zn e Mn após a floração (França et al., 2010), e o café orgânico apresenta uma quantidade diferente de compostos fenólicos em relação ao convencional (Górecki; Hallmann, 2020). No entanto mais estudos são necessários para saber se essa influência existe, e qual a sua extensão sobre a qualidade.

Novas tecnologias de manejo agrícola estão sendo empregadas em todo o mundo, no que vem sendo chamado de “agricultura de precisão” ou “agricultura 4.0”. Sistemas de visão computacional já são amplamente empregados em diferentes segmentos da produção agrícola e produção industrial de alimentos (Patrício; Rieder, 2018). É possível que essas novas tecnologias também auxiliem a cafeicultura no incremento da qualidade sensorial da bebida café.

Ainda durante o manejo pré-colheita, o cafeeiro está sujeito a vários tipos de estresse, que podem ser bióticos ou abióticos, incluindo seca, frio, calor, pragas e plantas concorrentes pelos nutrientes e água do solo. Assim como em outras etapas do manejo cultural do cafezal, trabalhos relacionando diferentes tipos de estresse à qualidade da bebida também são escassos. Seca, frio e calor, sozinhos ou combinados, inibem o crescimento e a atividade fotossintética de cafeeiros e afetam a expressão dos genes de cloroplastos, onde há vias metabólicas importantes para a qualidade do grão (Nguyen Dinh et al., 2016). *C. canephora* é em geral mais tolerante à seca que *C. arabica* (Ferrão et al., 2019), possuindo maior eficiência no controle do fechamento estomático e transpiração, envolvendo uma rede complexa

de respostas que provavelmente inclui a via de sinalização do ácido abscísico (ABA) (MARRACCINI et al., 2012). No entanto, o genótipo brasileiro de *C. arabica* variedade (vr) Icatu vermelho superou o clone de *C. canephora* Conilon 153 (CL153) em relação à resistência à seca e concentração de CO₂ atmosférico (GUEDES et al., 2018), demonstrando que essa tolerância é dependente do genótipo.

O aumento dos metabólitos secundários é relatado como resposta a diferentes estresses, como o causado pelos elicitores *Rhizopus oligosporus* e *Aspergillus niger*, e metil jasmonato (MJ) e ácido salicílico (AND.) em *C. canephora*, que aumentou em até 42% a cafeína, 39% a teobromina e 46% a trigonelina, juntamente com 32% de elevação do teor de cafestol e kahweol, o que é importante do ponto de vista da qualidade (Vaddadi; Parvatam, 2015). Porém, proteínas de defesa constitutiva, como as glico-hidrolases, proteases e proteínas relacionadas a patógenos (proteínas PR), se tornam importantes no stress biótico provocado pela doença mais importante de *C. arabica*, a ferrugem do café, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* (Guerra-Guimarães et al., 2015), que pode diminuir a qualidade organoléptica da bebida (Documet-Petrlík et al., 2022).

Após realizado todo o manejo do cafezal, a qualidade dos grãos, e por consequência, a qualidade da bebida café, ainda pode ser influenciada pelo pós-colheita. Nessa etapa ocorre o processamento dos frutos e dos grãos, que podem ser divididos em café seco/natural, lavado e semilavado/descascado natural (Hameed et al., 2018). No processamento úmido o fruto é descascado e deixado imerso em sua mucilagem e água durante um tempo antes da continuação do processamento. Dependendo da cepa e do tempo utilizados para a fermentação, esse processamento é capaz de destacar a acidez do café, melhorando os resultados sensoriais (Ribeiro et al., 2017).

No processamento úmido o grão de café arábica perde frutose e glicose, enquanto esses açúcares são concentrados no processamento seco (Knopp; Bytof; Selmar, 2006), e tem um aumento de ácidos clorogênicos e trigonelina (Duarte, Giselle S.; Pereira; Farah, 2010). No entanto, o menor conteúdo de glicose e frutose geralmente presente em grãos de café processado úmido em comparação com os processados a seco são, pelo menos em parte, devido a processos metabólicos e não estão relacionados à lixiviação de açúcares no curso do processamento úmido (Kleinwächter; Selmar, 2010). O teor de sacarose permanece o mesmo em ambos os tipos de processamento (Knopp; Bytof; Selmar, 2006).

O armazenamento de grãos de café verde é importante para evitar a perda rápida da qualidade, deve ser feito com umidade uniforme de 11% a 12%, em embalagens herméticas, com injeção de gás carbônico a 60%, em temperatura de 20 a 25°C por no máximo 6 meses (HAMEED *et al.*, 2018). Caso as condições de armazenamento não sejam adequadas ocorrem processos oxidativos no grão, causando perda de estrutura celular, viabilidade das sementes e alterações sensoriais. Esses processos indicam o envolvimento de espécies redutoras de oxigênio (ROS) que oxidam lipídios e proteínas durante o período de armazenamento. A casca dos frutos do café também é importante para a preservação da qualidade da bebida, pois protege o endosperma contra essa oxidação, bem como da perda de ácido 5-cafeoilquínico (5CQA) (Rendón; De Jesus Garcia Salva; Bragagnolo, 2014).

Para otimizar a qualidade da bebida, os grãos de café verdes devem ser torrados em nível médio-claro, não devem ser moídos e devem ser armazenados em temperaturas reduzidas. Se possível, é melhor introduzir um sistema capaz de armazenar e transportar grãos torrados com pergaminho intacto, pois oferece um efeito de blindagem contra a oxidação de lipídios e perda de voláteis (HAMEED *et al.*, 2018).

Os processos de torrefação e moagem estão interligados, pois a umidade, a porosidade e a fragilidade dos grãos de café torrados são definidos pelo nível de torra (Hameed *et al.*, 2018). Classes altamente voláteis de odores são perdidas durante a moagem, que também está relacionada com a infusão devido ao fenômeno do rendimento de extração e ao tipo de café. O tempo de torra tem um efeito importante na qualidade e quantidade de compostos bioativos nas bebidas de café (Górecki; Hallmann, 2020; Hameed *et al.*, 2018), causando a diminuição da atividade antioxidante e do teor de polifenóis conforme progride (Duarte, Stella Maris da Silveira *et al.*, 2005). Além disso, dependendo do modo de preparo, o café pode ser uma valiosa fonte de magnésio, manganês, cromo, cobalto, potássio e silício, e seu potencial antioxidante e qualidade também é afetado por essa variável (Janda *et al.*, 2020).

A combinação de genômica, transcriptômica e metabolômica permite uma compreensão mais profunda dos mecanismos subjacentes à complexa arquitetura de muitas características fenotípicas de relevância agrícola (Scossa; Alseekh; Fernie, 2021), e pode auxiliar a desvendar como manter ou aumentar a qualidade

dos grãos de café. Do ponto de vista da pesquisa, uma abordagem interdisciplinar é crítica, onde os especialistas em biotecnologia que desenvolvem culturas geneticamente editadas (GE) trabalhem em estreita colaboração com cientistas de outras disciplinas para fornecer os benefícios tecnológicos e socioeconômicos da agricultura de precisão (Toledo-Hernández *et al.*, 2021).

No artigo 1 a relação entre vários marcadores químicos da qualidade é discutida em conjunto com seus marcadores biológicos. O conhecimento dessa relação é importante para que seja possível manter ou aumentar a qualidade da bebida café em resposta aos estresses ambientais que já começaram a ser impostos pelas mudanças climáticas, com o uso da biotecnologia vegetal. Este artigo ainda não foi publicado.

3.1 ARTIGO 1: COMPOSIÇÃO DE GRÃOS DE CAFÉ RELACIONADA À QUALIDADE DA BEBIDA – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA NA PERSPECTIVA DO MELHORAMENTO

Composição de grãos de café relacionada à qualidade da bebida - Uma revisão sistemática na perspectiva do melhoramento

Daniele Alves Marinho^{a,*}, Lian de Souza Silveira^b, Mariane Fátima de Azevedo Rincon^b, Arthur Merigueti de Souza Costa^b, Vanildo Silveira^c e Rodrigo Scherer^{b,**}

^aFederal Institute of Education, Science and Technology of Espírito Santo (Ifes)

^bPharmaceutical Sciences Graduate Program, Universidade Vila Velha (UVV)

^cIntegrative Biology Laboratory. State University of Northern Rio de Janeiro Darcy Ribeiro (UENF)

*Email: dalmabio@gmail.com

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1427-5462>

**Email: rodrigo.scherer@uvv.br

**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7656-0248>

RESUMO

Os programas de melhoramento genético do café tem o o desafio de incluir em seus parâmetros de seleção a qualidade da bebida e sustentabilidade da cultura frente aos diferentes cenários de mudanças climáticas. A qualidade de bebida é uma característica multifatorial complexa. Com os conhecimentos e avanços das ferramentas “ômicas” nos últimos anos, as pesquisas nesta área estão sendo incorporadas nos programas de melhoramento com foco em qualidade. Nesta revisão forneceremos um panorama do que já foi realizado até aqui, com base em 44 artigos selecionados, em relação aos marcadores moleculares ligados à composição química relacionada aos atributos sensoriais da bebida café. Observamos que esse tipo de estudo possui mais resultados relacionados aos principais metabólitos secundários, metilxantinas e ácidos clorogênicos, do que aos metabólitos primários e secundários minoritários, como taninos e flavonóides.

Sugerimos que as ferramentas “ômicas”, como a metabolômica, lipidômica e proteômica, sejam mais utilizadas para desbravar a qualidade do café, em uma abordagem multidisciplinar.

Palavras-chave: *coffea*; qualidade sensorial; omicas; melhoramento.

3.1.1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, e o comércio desse produto é importante para a economia dos países em desenvolvimento, por isso, programas de melhoramento do café em todo o mundo investem na pesquisa com cafeeiros (Thierry Leroy et al. 2011 ; Ferrão et al. 2019), sendo as duas espécies de maior valor comercial *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. Os desafios que esses programas enfrentam se encontram, principalmente, na origem multifatorial da qualidade dessa bebida, que sofre a interferência de fatores ambientais (Alves et al. 2018; Decazy et al. 2003), do grau de maturação (Marín-López et al. 2003; Yadessa et al. 2020), da forma de beneficiamento no pós colheita (Kleinwächter and. Selmar 2010; Knopp, Bytof, and. Selmar 2006) e do genótipo (López-García et al. 2016; Sobreira, Sobreira, and. Sakyama 2015).

Bunn et al. (2015) alertam sobre o impacto das mudanças climáticas na produção global de café, que pode levar à diminuição de 50% da área própria para essa cultura, especialmente no Brasil e no Vietnã, dois grandes produtores. O aquecimento de áreas mais baixas diminuirá a área de plantio para *Coffea arabica*, que necessitará de maiores altitudes para se desenvolver. O impacto será menor em *Coffea canephora*, por ser uma espécie mais resistente às mudanças ambientais, no entanto, essa espécie também depende das variações de temperatura para a produção de seus frutos. Cerca de 60% das espécies selvagens de café correm risco de extinção no processo (Davis et al. 2019). Na contramão dessa previsão, a demanda por café no mundo aumenta progressivamente (ICO 2022).

Há evidências de que o aumento da temperatura global poderá reduzir a qualidade da bebida, modificando a expressão e atividade de proteínas importantes nas vias metabólicas das substâncias envolvidas nessa qualidade (Abreu et al.

2012; Yadessa et al. 2020), portanto, a melhoria genética das culturas é uma estratégia essencial para se adaptar às mudanças climáticas (Henry 2020). Embora o melhoramento clássico da qualidade da bebida café seja possível sem prejuízo do rendimento do cafeeiro (Montagnon et al. 1998), o melhoramento baseado em ferramentas de manipulação genética é mais vantajoso. Um esquema clássico de melhoramento de café é composto basicamente por métodos de genealogia e retrocruzamento, que são comumente aplicados em culturas anuais de diploidia autopolinizada. Os criadores exploram o sistema de acasalamento para seleção efetiva de linha pura a partir de autofecundação e teste de genótipos superiores (Clifford and. Willson 1985). Por ser uma cultura perene com longo período juvenil, os ciclos de melhoramento são caros e demorados, resultando em avaliação de longo prazo e baixos ganhos genéticos por unidade de tempo. Além disso, as avaliações de produtividade são comumente afetadas pela bienalidade presente na cultura, o que se torna um desafio para selecionar genótipos superiores (Carvalho et al. 2020), e a introgressão de genes de resistência à estresses bióticos e abióticos pode também levar para os genótipos superiores genes que comprometem a qualidade da bebida (Bertrand et al. 2003).

A espécie *C. arabica* ($2n = 4x = 44$) é um alotetraplóide contendo dois genomas que se originaram de dois ancestrais selvagens diplóides diferentes, *C. canephora* e *C. eugenioides* Moore. Essa espécie é caracterizada por uma baixa diversidade genética, que é atribuível à sua biologia reprodutiva e evolução. Entre outras coisas, a baixa variabilidade se reflete em sua suscetibilidade à maioria das doenças (Lashermes et al. 1999). Em contraste, *C. canephora* é uma espécie diplóide ($2n = 2x = 22$) com considerável variabilidade (Bertrand et al. 2003). Devido a todas essas características, modificações genéticas em *C. arabica* têm sido buscadas, com o intuito de criar cafeeiros resistentes a pragas e variáveis ambientais, sem, no entanto, diminuir a qualidade de sua bebida.

Desde a segunda metade do século 20, a maioria dos programas de melhoramento implementados em todo o mundo (Brasil, Colômbia, Quênia, Etiópia, Costa Rica, Honduras) transferiu resistência à ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. E Br.), nematóides das galhas (*Meloidogyne* sp.) e doença do café (*Colletotrichum kahawae sensu* Hindorf) do Híbrido do Timor, que é derivado de um cruzamento interespecífico selvagem entre *C. arabica* e *C. canephora*, a cultivares de *C. arabica* (Bertrand et al. 2003).

Segundo Bertrand et al. (2003) a maioria dos compradores de café afirma que as novas variedades introgridas têm uma qualidade da bebida inferior ao padrão *C. arabica* da var. Caturra. É possível que a introgressão de genes de resistência possa interferir na qualidade da bebida. No entanto, os autores concluíram que esse problema pode ser contornado com uma seleção adequada de genótipos para evitar acompanhar a introgressão de genes de resistência com uma queda na qualidade sensorial, ressaltando o fato de que utilizar genes altamente correlacionados à composição química da qualidade da bebida tornaria o melhoramento mais eficiente.

Embora a publicação a respeito da qualidade da bebida café na área de química e ciência de alimentos seja vasta, até o momento, não foram encontradas revisões de literatura relacionando as substâncias que afetam essa qualidade aos marcadores genômicos do cafeeiro. Permanece uma lacuna em nossa compreensão da relação do perfil de sabor à composição química e, especialmente, à sua impressão genética (Cheng et al. 2020), portanto, nesta revisão foi sintetizado o histórico da produção científica que relaciona as substâncias envolvidas na qualidade da bebida café com a expressão gênica dessas vias metabólicas, de forma a auxiliar o melhoramento genético do cafeeiro com foco na qualidade da bebida.

3.1.2 MÉTODO

Este é um artigo de revisão sistemática, revisado e executado independentemente pelos autores Daniele Alves Marinho, Lian de Souza Silveira, Mariane Fátima de Azevedo Rincon, Arthur Merigueti de Souza Costa, Vanildo Silveira e Rodrigo Scherer com uso da ferramenta Start (Fabbri et al. 2016). As buscas foram realizadas seguindo as recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Haddaway et al. 2022). A pergunta norteadora foi a seguinte: os resultados da literatura sobre os marcadores químicos e “ômicos” de qualidade da bebida café já podem contribuir significativamente para o melhoramento genético dessa característica tão complexa?

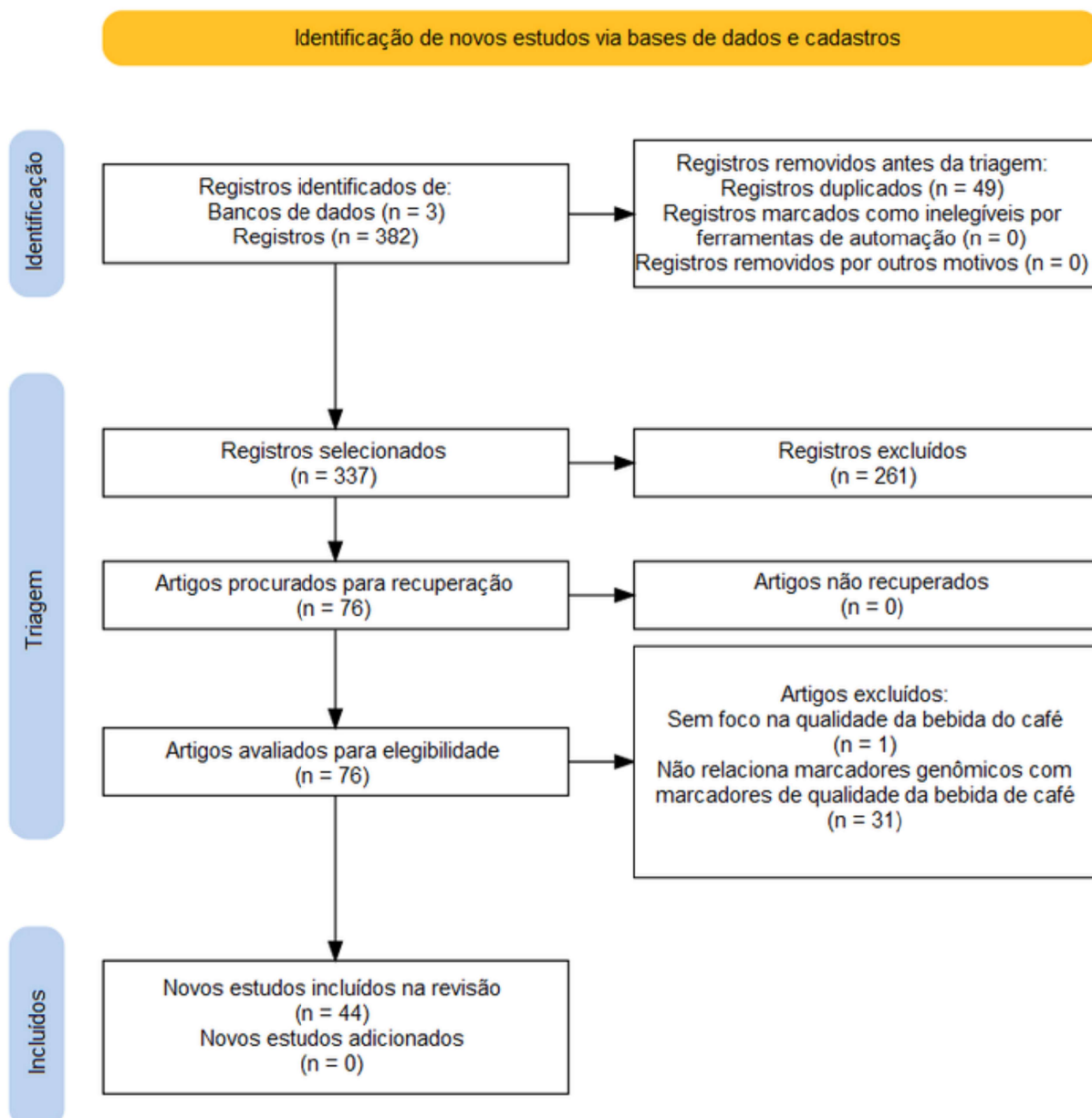
O critério de seleção das fontes foi o de bases de dados com periódicos indexados que tinham revisão por pares, e as bases escolhidas foram Scielo, Web of Science e Scopus. Optou-se pela busca em português do Brasil e inglês, partindo da premissa que poderia haver artigos publicados em português que se enquadrasse nos critérios de seleção. As palavras-chave escolhidas na língua portuguesa foram: análise sensorial, café, genes, genoma, perfil sensorial, proteoma e qualidade sensorial. As palavras escolhidas na língua inglesa são: coffee, genome, proteome, QTL, sensory analysis, sensory profile, sensory quality e SNP. A palavra “*Coffea*” foi inserida para ambas as línguas. As strings de busca que mais se adequaram às bases de dados, e trouxeram os melhores resultados foram: Scielo, (café) OR (*Coffea*) AND. (“qualidade sensorial”) OR (“perfil sensorial”) OR (“análise sensorial”) AND. (snp) OR (QTL) OR (genes) OR (proteoma) OR (genoma) no campo “Todos os índices”; Web of Science, (coffee OR *Coffea*) AND. (“sensory quality” OR “sensory profile” OR “sensory analysis”) AND. (snp OR QTL OR genes OR proteome OR genome) no campo “Tópico”; e na base Scopus, (TITLE-ABS-KEY (coffee OR *Coffea*) AND. ALL (“sensory quality” OR “sensory profile” OR “sensory analysis”) AND. (snp OR QTL OR genes OR proteome OR genome).

Os critérios de elegibilidade foram os seguintes: apenas fontes primárias, publicadas em periódicos revisados por pares, que tenham dados da química do café relacionados a algum biomarcador molecular (genes, RNA, SNP, QTL, etc) (inclusão) e que não incluam a qualidade sensorial da bebida café em sua discussão (exclusão).

3.1.3 RESULTADOS

O fluxograma Prisma para e os estudos selecionados por meio dele estão dispostos são mostrados na figura 1 e no quadro 1, a seguir.

FIGURA 1 — FLUXOGRAMA PRISMA PARA SELEÇÃO DOS ESTUDOS (PRISMA = PREFERRED REPORTING ITEMS FOR SYSTEMATIC REVIEWS AND META-ANALYSES).



Fonte: a autora (2022).

QUADRO 1 - ESTUDOS SELECIONADOS SEGUNDO O FLUXOGRAMA PRISMA.

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
Abreu <i>et al.</i> , (2012)	CafEST	<i>CaCP</i> , <i>CcCP</i> , <i>CaAP</i> , <i>CcAP</i>	Protein	<i>Coffea arabica</i> cv. Obatã IAC 1669-20	Immature and mature fruits, endosperms.	-
Akaffou <i>et al.</i> , (2012)	Akaffou <i>et al.</i> , (2003)	<i>ft</i> , <i>caf</i> , <i>het</i>	Fructification time Caffeine Heteroside	<i>C. pseudozanguebariae</i> Bridson × <i>C. canephora</i> Pierre F ₁ hybrids. BC ₁ (C. <i>pseudozanguebariae</i> Bridson × <i>C. canephora</i> Pierre) × <i>C. canephora</i> Pierre F ₁ hybrids.	Mature fruits endosperms wet processed	4 F ₁ hybrids 83 BC ₁
Anagbogu <i>et al.</i> , (2019)	SNP Metabolomic	-	Sugar derivatives, organic acids, amino acids, amines, Unknown compound '6404'	<i>Coffea arabica</i> , <i>Coffea abeokutae</i> , <i>Coffea liberica</i> , <i>Coffea stenophylla</i> , <i>Coffea canephora</i>	Young leaves (DNA) Reddish matured (ripened), coffee bean endosperm.	48
Anagbogu <i>et al.</i> , (2021)	SNP Lipidomic	-	Fat	<i>Coffea canephora</i>	Young leaves (DNA) Reddish matured (ripened), coffee bean endosperm.	30
Bertrand <i>et al.</i> , (2003)	AFLP	-	Caffeine Chlorogenic acids Fat Trigonelline Sucrose	Introgressed <i>Coffea arabica</i> <i>Coffea arabica</i> Caturra, <i>Coffea arabica</i> Catuai, <i>Coffea arabica</i> Villa-Sarchi	Matured (ripened), coffee bean endosperm.	25
Cação <i>et al.</i> , (2012)	<i>In ilico</i> EST's identification	<i>CaPME</i>	Polysaccharides	<i>Coffea arabica</i> L cv. IAPAR-59	Fruits in different stages of ripening: Roots, Branches, Leaves, Flower buds, Flowers	3
Cheng <i>et al.</i> , (2017)	LSR	<i>XMT1</i> , <i>MXMT1</i> , <i>MXMT2</i> , <i>DXMT1</i> , <i>DXMT2</i> , <i>SS1</i>	Caffeine Sucrose	<i>Coffea arabica</i> L. var. K7	Immature, intermediate, and mature coffee bean.	5
Cheng <i>et al.</i> , (2018)	DEGs	<i>SDP</i>	Polysaccharides	<i>Coffea arabica</i> L. cv. K7	Cherries of different	3

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
	HEGs	Transcriptional factors	Polyphenols Lipids Proteins		ripening stages (green, yellow and red). Endocarp, perisperm (seed coat), endosperm and embryo (encapsulated by endosperm).	
Cheng <i>et al.</i> , (2020)	DEGs	<i>XMT, MXMT, DXMT, CTgS2, SUS, VIN, CIN, CWIN, VINI, CWINV11, SPS, SPP, C4H4, C3'H, CCoAOMT1, CCoAOMT5, HCTa</i>	Protein, Sucrose, Lipids, Caffeine, Chlorogenic acids	<i>Coffea arabica</i> L. K7	Mature cherries.	4
Denoeud <i>et al.</i> , (2014)	WGS	<i>CcXMT, CcMTL, CcNMT3, CcDXMT, FAD2, CcFAD2.3</i>	Caffeine, Lipids	<i>Coffea canephora</i>	-	-
Gaspari-Pezzopane <i>et al.</i> , (2012)	ESTs	<i>ABA3, ARF, ASN1, GN, SCR, STM, AAT, CHS, CS, CCoAOMT1, 4CL, GAL, IFS, MAN-B, MS, PAL, TS, ACO, ACS, CAT, CSP1, DH, AND.3, ER5, ERF, ETR, GR, ICL</i>	Protein, Caffeine, Chlorogenic acids, Peroxidase, Carbohydrates, Maturation, Theobromine	<i>C. arabica</i> cultivars: Mundo Novo IAC 388-17, Catuaí Vermelho IAC 144, Icatu Vermelho IAC 4045, Obatã IAC 1669-20, Icatu Precoco IAC 3282	Ovary, Fruit: Pinhead, Expansion, Green, Yellowish-green, Cherry, Endosperm	10
Geromel <i>et al.</i> , (2006)	ESTs	<i>CaSUS1, CaSUS2</i>	Sucrose	<i>Coffea arabica</i> cv. IAPAR 59	Fruit: pinheads (60 DAF), Green 1 (130 DAF), Green 2 (165 DAF), Mature (234 DAF) Tissues: perisperm, endosperm, pericarp	-
Geromel <i>et al.</i> , (2008)	Northern blot	<i>CaSUS1</i> <i>CaSUS2</i>	Sucrose	<i>Coffea arabica</i> L.	Fruits were harvested every four weeks after flowering until cherry	3

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
					fruit maturity. Tissues: Pericarp, Perisperm, Endosperm	
Ivamoto <i>et al.</i> , (2013)	<i>In silico</i> search of polymorphisms	<i>PAL, C4H, 4CL, CQT, C3'H</i>	Chlorogenic acids	<i>Coffea</i> spp.	-	-
Joët <i>et al.</i> , (2009)	ESTs	DV703215, EE200220, EE199490, <i>sus1</i> , SPS, SPP, CS, MGT, MS, GMGT, MIPS, MIOX, UDP, UGDH, GalAT,, RFO, GPAT, LPAAT, PAP, DAGAT, CPT, KCS, FATb, KASII, SAD, FaTA, PAL1, PAL2, C4H, 4CL, CCoAOMT, C3H, HCT1, HQT, CCR, F5H, CCoAOMT1, HCT1, CAD, POD	Sugar Fat Chlorogenic acids	<i>Coffea arabica</i> L. cv. Laurina	Seeds in developmental stages below (DAF): 45, 75, 105, 135, 180, 225, 255	20
Joët <i>et al.</i> , (2010)	QTTs	CCR4, CHR, C3Hc1, CCoAOMT, F5H2, CCR1, CCR2, PAL2, C4H, PAL2, 4CL8, HQT, F5H1, POD, OMT	Chlorogenic acid	<i>Coffea arabica</i> cv 'Laurina'	Seeds in developmental stages below (DAF): 90–120, 120–150, 150–210, 210–240, >240	3
Koshiro <i>et al.</i> , (2006)	(RT)-PCR	CmXRS CTS2 CCS1 MS a-tubulin	Caffeine Trigonelline	<i>Coffea arabica</i> cv. Mokka (MA2-7) <i>Coffea arabica</i> cv. Catimor (T5175-7-1), <i>Coffea canephora</i>	Maturity stages: A – Whole fruit, B – Whole fruit, C – Whole fruit, D – Whole fruit, E – Whole fruit (Pericarp Seed) F – Whole fruit (Pericarp, Seed) G – Whole fruit (Pericarp, Seed)	-

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
Koshiro <i>et al.</i> , (2007)	Semi-quantitative reverse transcription (RT)-PCR	<i>PAL1</i> <i>C3'H</i> <i>CCoAMT</i>	Chlorogenic acids	<i>Coffea arabica</i> cv. Tall Mokka <i>Coffea canephora</i> (#6621)	Fruit growth stages: I – Green, II – Green, III – Green, IV – Pink, V – Red	-
Ky <i>et al.</i> , (2001)	AFLP	QTL	Trigonelline	<i>Coffea pseudozanguebariae</i> x <i>Coffea liberica</i> var. dewevrei hybrid	Mature beans	42
Lepelley <i>et al.</i> , (2007)	Real-time RT-PCR expression RACE	<i>HCT</i> <i>HQT</i> <i>C3H1</i> <i>CCoAOMT1</i>	Chlorogenic acid	<i>C. canephora</i> BP409 <i>Coffea canephora</i> (robusta) FRT05 and. FRT64	Cherries Branch Roots Flowers	-
Lepelley <i>et al.</i> , (2012)	High-resolution mapping Differential expression	<i>CcPAL1</i> <i>CcPAL2</i> <i>CcPAL3</i>	Phenolics	<i>Coffea canephora</i> Pierre BP409	Young leaves, Branches, Roots, Flowers, Cherries beans and pericarp in development stages: Small green fruit, Large green fruit, Yellow fruit, Red fruit ®.	-
Leroy <i>et al.</i> , (2005)	BAC library RFLP	<i>CcSUS1</i> SSR markers	Sugar	<i>Coffea canephora</i> genotype 126	Young leaves	-
Leroy <i>et al.</i> , (2011)	Genetic mapping ESTs	QTLs SSR markers	Caffeine Chlorogenic acids Sugar	<i>Coffea canephora</i>	Leaves	-
Maluf <i>et al.</i> , (2009)	Semi-quantitative and. quantitative RT-PCR ESTs	<i>CmXRS1</i> <i>CTS2</i> <i>CCS1</i>	Caffeine	<i>Coffea arabica</i> AC1 <i>Coffea arabica</i> cv. Mundo Novo, <i>Coffea eugenioides</i> <i>Coffea canephora</i>	Coffee fruit in development stages: 1 – pinhead, 2 – expansion, 3 – green, 4 – yellowish-green, 5 – cherry	-
Mizuno <i>et al.</i> , (2002)	(RT-PCR) RACE	<i>CtCS</i>	Caffeine Theobromine	<i>Coffea arabica</i>	Coffee fruit in development stages: GF – green fruits, IS – immature seeds, OS – pulps and outer skins	-

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
					YL – young leaves, ML – mature leaves, OL – old leaves, FB – flower buds	
Mizuno <i>et al.</i> , (2003)	Semi-quantitative reverse transcription (RT)-PCR RACE	<i>CtCS</i> renamed <i>CmXRS1</i> .	Xanthosine Caffeine	<i>Coffea arabica</i> L.	DE – developing endosperms YL – young leaves FB – flower buds	-
Mizuno <i>et al.</i> , (2014)	Semi-quantitative RT-PCR	<i>CTgS1</i> <i>CTgS2</i>	Nicotinic acid, Trigonelline	<i>Coffea arabica</i>	FB – flower buds, CL – closed leaves, YL – young leaves, ML – mature leaves	-
Mondego <i>et al.</i> , (2011)	ESTs	<i>CesAs</i> , <i>InvI3</i> , <i>RS</i> , <i>CaContig</i> , <i>CcContig</i> , <i>SE2</i>	Carbohydrate, Amino acid, Caffeine, Trigonelline, Chlorogenic Acid	<i>Coffea arabica</i> <i>Coffea canephora</i>	<i>In silico</i>	-
Ogawa <i>et al.</i> , (2001)	BAC, Reverse, Transcription-PCR, GFP Fusion Plasmid, Fluorescence, Microscopy	<i>CaMXMT</i> <i>CaMTL1</i> <i>CaMTL2</i> <i>CaMT3</i>	Caffeine	<i>Coffea arabica</i> L. var. caturra	Stems Young leaves Roots Old leaves	-
Ogita <i>et al.</i> , (2004)	RNAi	<i>CaMXMT1</i> <i>CaXMT1</i> <i>CaDXMT1</i>	Theobromine Caffeine	<i>Coffea arabica</i> var. Caturra <i>Coffea canephora</i> var. Conilon	Young leaves	-
Ogutu <i>et al.</i> , (2020)	DNA sequencing	<i>Cc-Man-S</i> , <i>Cc-GMGT</i> , <i>Cc-alpha Gal</i> , <i>Cc-UG4E</i> , <i>Cc-MGT</i>	Polysaccharides	<i>Coffea canephora</i>	Seeds at mature stage	23
Oliveira <i>et al.</i> , (2021)	Quantitative RT-Qpcr	<i>CaHMGR</i> , <i>CaMVD</i> , <i>CaDXR</i> , <i>CaIDS</i> , <i>CaCYP82C2</i> , <i>CaCYP71A25</i> , <i>CaCYP74A1</i> , <i>CaCYP701A3</i>	Isoprenoid	<i>Coffea arabica</i> L. cv. IAPAR59	Fruits at 90 and 210 DAF, green and ripe fruits, respectively.	3
Perrois <i>et al.</i> , (2015)	Quantitative real time	<i>CcXMT1</i> , <i>CcMXMT1</i> ,	Caffeine	<i>Coffea arabica</i> L. cv.	SG – small green fruit	1

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
	PCR	<i>CcDXMT</i> , <i>CaXMT1</i> , <i>CaXMT2</i> , <i>CaMXMT1</i> , <i>CaMXMT2</i> , <i>CaDXMT1</i> , <i>CaDXMT2</i>		Caturra CCCA12 and. CCCA02 <i>Coffea canephora</i> var. robusta FRT05 and. FRT64	LG – large green fruit Y – yellow fruit R – red fruit	
Pinto <i>et al.</i> , (2021)	RNA-seq	<i>HQT</i> , <i>HCT</i> , <i>CYP</i> , <i>XMT</i> , <i>DXMT</i> , <i>MXMT</i> , <i>CTgS</i>	Caffeine, Trigonelline, Chlorogenic acids, Diterpenes	<i>C. canephora</i>	<i>In silico</i>	-
Privat <i>et al.</i> , (2008)	RT-PCR,	<i>CcSP1</i> , <i>CcPS2</i> , <i>CaInv3</i> , <i>CcInv4</i> , <i>CcInv1</i> ,2,3,4	Sugar	<i>Coffea arabica</i> L. cv. Caturra <i>Coffea canephora</i> var. Robusta	Small green fruit (SG), Large green fruit (LG), yellow fruit (Y), red fruit ®	2 <i>Coffea Arabica</i> 2 <i>Coffea Canephora</i>
Sant’Ana <i>et al.</i> , (2018)	GWAS	SNP markers	CAF KAH	<i>Coffea arabica</i>	Coffee beans without husk and parchment	107
Santos <i>et al.</i> , (2014)	RT-PCR	CAT3, SOD, PPO, UBQ	maturation	<i>Coffea arabica</i> L. cv Rubi	Whole seeds (Green, Yellowish-green, Cherry, Over-ripe, Dry stage), Endosperms, Embryos	4
Santos <i>et al.</i> , (2015)	Qrt-PCR	TUB, MAN, UBQ	α-galactosidase, caffeine, isocitrate lyase and. ethylene receptor 3	<i>Coffea arabica</i> L. cv Rubi	Whole seeds, Endosperms (Green stage), Embryo (Over-ripe stage)	4
Santos <i>et al.</i> , (2018)	Qrt-PCR	Hydrogen peroxide (H2O2), MDA, SOD, CAT, APX	Phenological analysis	<i>Coffea arabica</i> cv. Bourbon amarelo	Coffee fruit in development stages: Ex – expansão, G – green, YG – yellow-green, C – cherry, C – raisin, D – dry	6
Spinoso-Castillo <i>et al.</i> , (2022)	GWAS	SNP markers	Caffeine, trigonelline, and. 5-CQA	<i>Coffea</i> spp. Genotypes (<i>C. arabica</i> , <i>C. canephora</i> , and. <i>C. liberica</i>)	Leaves	<i>C. arabica</i> (n = 76) <i>C. canephora</i> (n = 3) <i>C. liberica</i> (n = 1)
Toniutti <i>et al.</i> , (2019)	RNAseq, Qrt-PCR	CaPHOT2, CaPHY, CaCRY, CaLHCB1, CaLHCB4, CaLHCB5	Sugar	<i>C. arabica</i> var. Caturra, Arabica clone GPFA124	Leaves	-

References	Genomic method	Genomic marker	Coffee quality marker	Coffee genotype	Organ/Development stage	Total distinct measurement
Tran, Furtado <i>et al.</i> , (2018 ^a)	XP-GWAS	SNP markers	Caffeine Trigonelline	<i>C. canephora</i> <i>C. eugenoides</i>	Leaves	72
Tran, Ramaraj <i>et al.</i> , (2018b)	DNA sequencing, PCR	SNP markers	caffeine	<i>Coffea arabica</i> var. K7	Leaves	18
Uefuji <i>et al.</i> , (2003)	RT-PCR	<i>CaXMT1</i> <i>CaMXMT1</i> <i>CaMXMT2</i> <i>CaDXMT1</i>	Caffeine	<i>Coffea arabica</i>	Young leaves, Old leaves, Floral buds, Immature fruits (green, stage 6–7), Mature fruit (red, stage 10)	-

Fonte: a autora (2022)

3.1.4 DISCUSSÃO

Embora a definição de metabolismo primário e metabolismo secundário não seja totalmente clara, para certos compostos representa essencialmente substâncias que são produzidas de forma ubíqua por todas as espécies de plantas e outros organismos e geralmente são essenciais para a sobrevivência (metabolismo primário), ou aquelas geradas exclusivamente por espécies ou táxons específicos de plantas e são estruturalmente muito diversas (metabolismo secundário) (Aharoni and Galili 2011). Nesta revisão usaremos essa divisão para discutir os resultados apresentados no quadro 1 e na figura 1.

3.1.4.1 METABOLISMO PRIMÁRIO

O metabolismo primário inclui principalmente os blocos de construção universais e essenciais de açúcares, aminoácidos, nucleotídeos, lipídios e fontes de energia. As vias metabólicas desses metabólitos e os compostos reais produzidos por esses processos fundamentais são muito semelhantes, embora em alguns casos não idênticos, entre animais, bactérias, fungos, plantas e outros organismos (Aharoni; Galili, 2011).

3.1.4.1.1 *Carboidratos*

Em plantas superiores, o metabolismo do açúcar tem se mostrado essencial para o controle do desenvolvimento das sementes, principalmente através da regulação do processo fonte/dreno (Geromel et al. 2006). O perfil de açúcar no grão de café verde está sujeito a grande variabilidade, pois é influenciado por características genéticas e condições climáticas, e principalmente pela maturação, quando o teor de açúcares redutores diminui e o teor de sacarose aumenta (Barbosa et al. 2019). De fato, os carboidratos representam cerca de metade do peso seco da semente e, entre eles, a sacarose é considerada o precursor mais importante do sabor e aroma do café (Clifford and Willson 1985).

A sacarose tem um papel central nas mudanças químicas que ocorrem durante a torra. A degradação da sacarose e polissacarídeos da parede celular geram açúcares redutores, que reagem com aminoácidos através de reações de glicação de Maillard (Mondego et al. 2011), que levam a uma ampla gama de compostos (ou seja, ácidos alifáticos, hidroximetil furfural e outros furanos, pirazina e compostos de carbonila, melanoidinas, água e dióxido de carbono) considerados em conjunto como contribuintes essenciais para o sabor do café (Craig et al. 2018; Clifford and Willson 1985). Mono e dissacarídeos são consumidos, e a sacarose é hidrolisada e pirolisada. Os polissacarídeos, exceto a celulose, são amplamente alterados em termos de graus de ramificação e de polimerização, sendo assim parcialmente solubilizados (Craig et al. 2018). Além da contribuição para a doçura da bebida do café, a sacarose e os açúcares redutores contribuem para a formação de sua cor e aroma (Barbosa et al. 2019).

Ky et al. (2000) pesquisou híbridos da cultivar antiga *Coffea liberica* (Dewevrei), que têm baixos níveis de sacarose, com a espécie selvagem *Coffea pseudozanguebariae*, que possui teores de sacarose próximos à *C. arabica*, demonstrando que a herança dessa característica possui aditividade genética, isso significa que o teor médio de sacarose de uma progênie deve estar próximo dos valores médios parentais. Os resultados também sugeriram que é uma herança do tipo poligênica com genes independentes e um alto nível de heterozigosidade parental, concluindo que *Coffea pseudozanguebariae* poderia ser usado com *C.canephora* na reprodução para esta característica.

T. Leroy et al. (2005), pesquisando a espécie *C.canephora*, verificou que a sacarose sintase (SuSy) foi codificada por pelo menos dois genes, sendo um deles *CcSUS1*. É interessante notar que nessas plantas, esses genes estão diretamente relacionados ao controle da função de dreno, conforme deduzido por seus padrões de expressão. Este também parece ser o caso do gene *SUS1* em *Arábica*, onde sua expressão foi observada no momento da rápida expansão dos tecidos do perisperma e do endosperma durante o desenvolvimento do grão, na fase verde da maturação. Juntos, isso sugere um papel fundamental do *CaSUS1* na definição do volume do espaço locular e, portanto, no tamanho final dos grãos de café. No entanto, entre várias enzimas do metabolismo do açúcar pesquisadas por Geromel et al. (2006) em *C. arabica*, a sacarose sintase mostrou as atividades mais altas durante o último estágio do desenvolvimento do endosperma e do pericarpo e

essa atividade acompanhou de perto o acúmulo de sacarose nesses tecidos neste estágio.

O metabolismo dos açúcares no cafeeiro é um assunto complexo. A homeostase da sacarose e a acumulação líquida em órgãos drenos (como flores e frutos) envolvem a interação de vários ciclos 'fúteis' incorporando importação, degradação e ressíntese e englobando reações no citosol, vacúolo e apoplasto (Privat et al. 2008). Em Privat et al. (2008), nove novos genes de *Coffea* que codificam enzimas do metabolismo da sacarose foram identificados: sacarose fosfato sintase (*CcSPS1*, *CcSPS2*), sacarose fosfato fosfatase (*CcSP1*), citoplasmática (*CaInv3*) e invertases de parede celular (*CcInv4*) e quatro inibidores de invertase (*CcInv1*, 2, 3, 4).

As mudanças de desenvolvimento na atividade de SuSy foram diferentes nos grãos Robusta e Arábica. Embora a atividade de SuSy não tenha sido significativamente diferente durante o desenvolvimento de grãos de Arábica, ela mostrou um aumento acentuado entre os estágios small green (SG) e large green (LG), em ambas as variedades de Robusta, diminuindo no estágio amarelo, mas aumentando novamente no final do desenvolvimento (Privat et al. 2008). Assim, a alta atividade de SuSy está associada à fase de crescimento do desenvolvimento do fruto do café e, mais especificamente, ao desenvolvimento do endosperma (Castro and Marraccini 2006; Geromel et al. 2006; Privat et al. 2008).

Dos dois genes SuSy caracterizados por Privat et al. (2008), *CcSS2* é altamente expresso no início do desenvolvimento do grão e, em seguida, diminui em todos os quatro genótipos pesquisados, dois de Arábica e dois de Robusta, sendo a diminuição mais pronunciada nos genótipos Robusta. Em contraste, o mRNA de *CcSS1* está presente em níveis muito baixos em todos os estágios. Esses resultados sugerem que *CcSS2* codifica a isoforma predominante implicada no desenvolvimento do endosperma do café. E essa dinâmica demonstra que a resistência do dreno é maior em Robusta do que em grãos Arábica no início do desenvolvimento (Privat et al. 2008). Embora Geromel et al. (2006) tenha observado um aumento maciço na atividade de SuSy no final do desenvolvimento do grão arábica o mesmo não foi observado por Privat et al. (2008), sendo esse fato atribuído às diferenças de localização e da maturação do fruto. Nesse contexto, é importante ressaltar que a atividade de SuSy é regulada por vários parâmetros, particularmente disponibilidade de substrato (Nguyen-Quoc and Foyer 2001) e

modificação pós-traducional por meio de modificação covalente (Anguenot et al. 2006).

A sacarose é transferida dos tecidos de origem fotossintética para os tecidos de dreno através do apoplasto (entre as células) e das vias do simplasto (através do citoplasma). Nos tecidos dreno, a sacarose é degradada por várias invertases específicas do tecido em hexoses. Essas invertases incluem invertase da parede celular (CWIN, apoplasto), invertase citosólica (CIN) e invertase vacuolar (VIN). No citoplasma especificamente, a sacarose é degradada pela sacarose sintase (SUS) em UDP-glicose, que pode ser usada para a síntese de polissacarídeos da parede celular ou ressíntese de sacarose por sacarose fosfato sintase (SPS) e sacarose fosfato fosfatase (SPP) (Cheng et al. 2020).

A resistência do dreno também é impulsionada pela atividade das invertases celulares, especialmente as isoformas vacuolares (Nguyen-Quoc and Foyer 2001). A atividade da invertase ácida solúvel foi muito maior no Robusta do que no genótipo Arábica, particularmente nos estágios iniciais do desenvolvimento do grão (Privat et al. 2008). Em Arábica, a atividade da invertase ácida foi baixa e relativamente constante em todos os quatro estágios de desenvolvimento de grãos analisados. Esses resultados mostram que a resistência ao dreno (determinada pela invertase ácida em associação com SuSy) é maior em Robusta do que em Arábica durante os estágios iniciais de desenvolvimento de grãos, que dependem da importação de sacarose simplástica. Esses dados mostram que a degradação da sacarose é consideravelmente maior nos genótipos Robusta do que nos Arábicas (Privat et al. 2008).

A invertase vacuolar é codificada por um único gene, *CcInv2*, no café. As atividades da invertase neutra (isoforma citoplasmática) e vacuolar são semelhantes em ambos os genótipos de Arábica. No entanto, a atividade da isoforma vacuolar é predominante em ambos os genótipos de Robusta (Privat et al. 2008). Apesar disso, *CcInv2* é um transcrito de alta abundância durante o desenvolvimento inicial de grãos em Arábica CCCA12 e em ambas as variedades Robusta (Privat et al. 2008). Com isso os autores deduziram que as diferenças observadas nas atividades da invertase ácida entre os genótipos Arábica e Robusta não podem ser atribuídas a diferenças na expressão do gene *CcInv2*.

Privat et al. (2008) então exploraram a possibilidade de controles pós-traducionais da atividade da invertase vacuolar em café. Os

inibidores *CcInvl2* e *CcInvl3* mRNA foram mais abundantes nos genótipos de Arábica do que em Robusta, com expressão altamente restrita aos estágios iniciais de maturação do grão, e transcritos de *CcInvl2* atingindo o maior acúmulo. Dessa forma os autores demonstraram uma ligação direta entre a expressão de inibidores específicos da invertase e a atividade de inibição da invertase.

Mondego et al. (2011) não detectaram ESTs de *C. arabica* codificando *Invl3*, segundo os autores, provavelmente devido à baixa cobertura de bibliotecas de frutos/sementes desta espécie. A presença de tal *Invl* particular no café poderia indicar novos mecanismos moleculares de regulação da invertase. No entanto, a presença de *Invl3* foi confirmada no trabalho de Privat et al. (2008), genes da invertase de parede celular e vacuolar (DV703215 e EE200220, respectivamente) em Joët et al. (2009) e atividade de invertase ácida em Geromel et al. (2006).

Segundo Privat et al. (2008) altas atividades de sacarose fosfato sintase (SPS) são acompanhadas pelo acúmulo de sacarose durante a maturação dos grãos Arábica e Robusta. A atividade da SPS aumentou entre os estágios SG e LG e diminuiu drasticamente entre os estágios LG e yellow (Y). No geral, as atividades de SPS foram maiores em Robusta do que em Arábica nos estágios iniciais de desenvolvimento de grãos, porém, maiores transcrições de SPS, *CcSPS1* e *CcSPS2*, e atividades de SPS no final do desenvolvimento são responsáveis pelo conteúdo final de sacarose dos grãos maduros de Arábica.

Privat et al. (2008) elucidam a diferença do teor de sacarose entre *C. arabica* e *C. canephora* atribuindo a duas causas, as maiores atividades de SuSy e invertase no início do desenvolvimento do grão que previnem o acúmulo de sacarose em Robusta; e atividades SPS mais baixas em Robusta do que em Arábica mais tarde no desenvolvimento de grãos. Curiosamente, ambos, Geromel et al. (2006) e Privat et al. (2008), verificaram uma diferença na distribuição das atividades de enzimas que sintetizam sacarose em *C. arabica* e *C. canephora* ao longo do processo de maturação, aparentemente *C. canephora* possui uma distribuição unimodal dessa atividade, e *C. arabica*, bimodal, com dois picos de atividade, uma durante a fase de expansão do grão, e outra no final da maturação. A diferença entre ambos é que em Geromel et al. (2006), a enzima é a SUS, e em Privat et al. (2008), a SPS.

Geromel et al. (2008) investigaram o impacto da luminosidade nos teores de sacarose relacionados à SUS e SPS, e verificaram que os níveis de transcritos do

gene *CaSUS2* foram maiores na sombra do que no sol. Como nenhum aumento de sacarose acompanhou essas mudanças, isso demonstra claramente uma relação entre o maior desenvolvimento do perisperma ocorrendo no início do desenvolvimento do fruto e o maior tamanho dos grãos maduros comumente observados em condições de sombra. Geromel et al. (2008) sugerem que há um redirecionamento do metabolismo da sacarose para outras vias metabólicas, por exemplo, polissacarídeos complexos. Resultados semelhantes foram obtidos por Cheng et al. (2020), em seu trabalho que compara a qualidade de grãos de café da parte superior e inferior do cafeeiro. Este estudo revela que o dossel inferior produziu grãos de café de alta qualidade com aroma de café mais intenso (melhoria na qualidade organoléptica do café) associado à melhora no acúmulo de sacarose, trigonelina e cafeína no grão. O aumento dos componentes químicos nos grãos no dossel inferior foram acompanhados por uma maturidade mais longa (Cheng et al. 2020).

Segundo Cheng et al. (2020), no estágio verde, a degradação da sacarose leva principalmente à biossíntese dos principais componentes do grão. Isso inclui galactomanana (polissacarídeos da parede celular principal), triacilglicerol (principais lipídios) e 11S, a principal proteína de reserva (Cheng et al. 2020). A expressão de genes nas vias do metabolismo da sacarose sugeriu fluxo de expressão gênica da parede celular (principalmente no estágio verde) para o citoplasma (estágio amarelo e vermelho) e depois para o vacúolo (estágio vermelho). Os principais genes que regulam o aumento da concentração de sacarose através da via metabólica incluem *CIN*, *SPS2_2*, *SPS1*, *SUS2_2*, *VINI_2* e *VIN_2* (Cheng et al. 2020).

Moschetto et al. (1996) relatou diferenças entre os grupos genéticos de seu estudo relacionadas à preferência do consumidor, aroma, acidez, corpo e amargor. Além disso, o mesmo estudo concluiu que os genótipos guineenses eram em média inferiores aos genótipos congolezes para preferência e aroma. No trabalho de Thierry Leroy et al. (2011), com os mesmos grupos genéticos, cinco zonas de QTL foram co-localizadas com genes candidatos relacionados à biossíntese das características analisadas: dois genes que codificam a biossíntese de cafeína, um gene implicado na biossíntese de ácidos clorogênicos e dois genes implicados no metabolismo do açúcar (Thierry Leroy et al. 2011). Em um mapa genético com 236 marcadores moleculares, Thierry Leroy et al. (2011) descobriu que as principais colocações de QTL para sacarose de diferentes anos foram no grupo de linkage I,

co-localizado entre amargor, acidez, conteúdo de 3-CQA, 4CQA e 5-FQA, teor de cafeína e rendimento.

Genes de sacarose foram usados para investigar a diversidade de sequências do transcriptoma do sistema de poliploidia por Cheng, Furtado, and Henry (2017). Para o gene da sacarose sintase 1 (SS1), um dos genes importantes no metabolismo da sacarose, nove variantes de transcrição foram identificadas. Essas variantes revelaram diversidade de transcrição que resultou em grande parte de diferentes cópias dos progenitores. Quando alinhados a *G-CcSS1* (sequência genômica de *C. canephora* SS1), as quatro principais variantes de transcrição de SS1 putativas mostraram alta identidade e variantes de nucleotídeos consistentes, sugerindo que estas eram cópias do *C.* subgenoma *canephora*. Todas as variantes de transcrição de sacarose estudadas nesta pesquisa foram estendidas na região 5'UTR em relação a relatos anteriores, exceto *SPS1* (Cheng, Furtado, and Henry 2017). Os autores atribuíram esse avanço ao uso do método Long-read sequencing (LRS), que explora sequências ainda não concluídas ou publicadas. Por exemplo, quatro variantes de transcrição foram identificadas a partir desta pesquisa, enquanto *SPS2* foi identificado apenas em *C. canephora* em vez de *C. arabica* (Cheng, Furtado, and Henry 2017).

As transcrições completas geradas por LRS neste estudo forneceram um transcriptoma de referência poliplóide de grãos de café em nível de isoforma. Comparado com seus progenitores de subgenoma, o transcriptoma do grão de café arábica era mais diversificado e complicado, com mais isoformas, enzimas e vias. Estudos de caso com cafeína e sacarose identificaram que essa diversidade e complexidade eram resultado de splicing alternativo, poliadenilação, extensão 5'UTR e cópias de subgenoma. A descoberta de novos genes e transcrições longas também foi uma vantagem do uso da tecnologia LRS (Cheng, Furtado, and Henry 2017).

Os polissacarídeos de armazenamento da parede celular (CWSPs) são compostos principalmente de mananas, glucomananas, galactomananas, xiloglucanas e galactanas. Esses polissacarídeos variam estruturalmente na cadeia principal, resíduos de ramificação e açúcares nucleotídeos, e sua biossíntese requer diferentes enzimas hidrolíticas (Ogutu et al. 2020). Mondego et al. (2011) encontraram em seu trabalho que havia prevalência de proteínas da superfamília de celulose sintase (pfam 03552; CesA) em *C. arabica* em relação a *C. canephora*,

revelando que a presença de genes específicos/prevalentes da espécie no café pode ajudar a explicar características particulares dessas duas culturas.

A família *CesA* inclui os genes “verdadeiros” da celulose sintase e oito outras famílias denominadas genes ‘semelhantes à celulose sintase’ *CsIA-CsIH*. Verificou-se que algumas proteínas *CsIA* atuam na síntese de mananas e xiloglucanas (Mondego et al. 2011). Os ortólogos desses genes *CsI* foram encontrados em tags de sequência expressa (ESTs) em *C. arabica* por Mondego et al. (2011). As proteínas *CesA* interagem em um complexo de celulose sintase, e acredita-se que cada tipo de célula contém três tipos de subunidades *CesA* em um único complexo. Portanto, a origem mais ampla das (ESTs) de *C. arabica* podem ser a razão para a prevalência de *CesAs* em *C. arabica* em comparação com *C. canephora* (Mondego et al. 2011).

Segundo Joët et al. (2009), diferente de outras plantas, no cafeeiro os oligossacarídeos da família Raffinose (RFOs) estão presentes transitoriamente durante a fase de armazenamento e são remobilizados durante os estágios intermediários de desenvolvimento para suprir a extensa demanda por galactose na síntese de galactomanana. As rafinose sintases (RS; EC 2.4.1.82) catalisam a síntese de rafinose a partir de sacarose e galactinol. Um dos maiores precursores do galactinol é o mio-inositol, Joët et al. (2009) também forneceram evidências de uma via de oxidação funcional de mio-inositol durante a biossíntese da parede celular (CWP) em café. Esta via foi caracterizada em nível molecular em plantas superiores e acredita-se que desempenhe um papel importante na biossíntese de polissacarídeos hemicelulósicos (Kanter et al. 2005).

As análises de Joët et al. (2009) indicaram que *C. arabica* tem maior quantidade de RS do que *C. canephora*. Tais dados parecem corroborar análises bioquímicas que mostraram que grãos de *C. canephora* contêm níveis reduzidos de rafinose em comparação com arábica (Mondego et al. 2011). No entanto, a inspeção cuidadosa dos autores sobre os aglomerados de RS *C. arabica* revelou que essas sequências eram derivadas de diversas bibliotecas de tecidos. A presença de mais bibliotecas EST de plantas estressadas em *C. arabica* pode ser a causa desse viés, pois o acúmulo de RFOs tem sido associado a respostas a estresses abióticos, protegendo o metabolismo celular de danos oxidativos e seca. Portanto, a rafinose pode exercer funções duplas no café: reservatórios de galactose nos grãos de café e papéis protetores no desenvolvimento vegetativo (Mondego et al. 2011).

Supõe-se que a diminuição de RFOs nos estágios finais do desenvolvimento do grão de café seja causada pela atividade da -D-Galactosidase (-Gal; EC 3.2.1.22). Mondego et al. (2011) identificaram três genes codificadores de -Gal como mais expressos nos estágios finais do desenvolvimento de sementes de *C. canephora* (Mondego et al. 2011). Juntamente com -Gal, -manosidases (EC 3.2.1.25) e endo -mananase (MAN; EC 3.2.1.78), são enzimas envolvidas na degradação de galactomananas durante a germinação de sementes, onde MAN armazena polissacarídeos da parede celular, como mananas, galactomananas e glucomananas para o embrião, e auxilia no rompimento do endosperma micropilar quando ele está pronto para emergir (Santos et al. 2015). Há também uma maior expressão de MAN em sementes inteiras e endosperma de *C. arábica* durante a fase verde, sugerindo a participação desse gene em outros processos no grão (Santos et al. 2015). As -manosidases são expressas preferencialmente em sementes em germinação de *C. arábica* e *C. canephora* (CaContig 3009, CcContig6678), um padrão semelhante em comparação com -Gal de *C. canephora* (CcContig 6678) (Mondego et al. 2011).

Ogutu et al. (2020) estudaram as taxas das variações evolutivas nos genes de polissacarídeos de armazenamento da parede celular de endosperma em *C. canephora*. Segundo os autores a seleção positiva detectada no gene de edição de ramificação GM Cc-alpha Gal provavelmente explica o motivo da variação da proporção de manose para galactose em sementes de café. Os genes altamente conservados de uridina difosfato (UDP)-glicose 4'-epimerase (*Cc-UG4E*) e manose-1P guaniltransferase (*CcMGT*) sugerem uma forte seleção negativa, que elimina alterações que causam efeitos deletérios no fitness devido ao papel crucial desses genes no fluxo de carbono da sacarose para o acúmulo de galactomanana em sementes de café (Ogutu et al. 2020).

3.1.4.1.2 Lipídios

Os atributos sensoriais aroma e sabor são importantes para a qualidade do café e critérios críticos para a aceitação do consumidor. Se a qualidade/gosto do aroma puder ser melhorada, pode ser possível aumentar a aceitação do consumidor de café e de produtos à base desse grão (Mahmud et al. 2022; Shahidi and Oh 2020). Os lipídios são uma importante fonte de sabor nos alimentos, tanto

desejáveis quanto indesejáveis, ambos os efeitos podendo ser gerados no processamento de alimentos por meio do envolvimento da degradação de Strecker e da reação de Maillard, bem como dos processos oxidativos (Shahidi and Oh 2020). A percepção do aroma e o gosto são significativamente afetados pelo nível de gordura do café. Portanto, a proporção de lipídios precisa ser otimizada para manter e/o melhorar o sabor característico dessa bebida (Mahmud et al. 2022).

Os cafés arábicas geralmente possuem teores lipídicos de 15%, o que é maior do que os robustas, que são em média 10%. No entanto, apesar de sua importância sensorial e fisiológica, não há estudos extensos de lipídios entre os genótipos de *C. canephora*. A lipidômica em plantas ainda está em sua infância em comparação com o perfil metabolômico mais amplo, e os dados para *C. canephora* são comparativamente menores do que os disponíveis para *C. arabica*. (Anagbogu et al. 2021).

O triacilglicerol (TAG) é o principal carreador de aroma no grão torrado, sua composição de ácidos graxos (FA) determina a geração de produtos de oxidação induzida termicamente, em particular aldeídos, que reagem prontamente com intermediários de Maillard, dando origem a compostos de aroma adicionais (Joët et al. 2009). Segundo Anagbogu et al. (2021) os TAGs C52 apresentaram grande diversidade estrutural em cafeeiros de *C. canephora* da Nigéria, contendo até seis triacilgliceróis de cadeia dupla, ou seja (52:1) a (52:6), mas, embora tenham encontrado alguns lipídios divergentes, em geral, a diversidade lipídica foi baixa entre os genótipos estudados, e será necessário iniciar a aquisição genética de outros países produtores de café por meio da colaboração.

Oliveira et al. (2021) verificaram, em relação ao teor de lipídios, que foi maior em frutos cultivados a pleno sol do que em agrofloresta (cerca de 11% a mais), o que corrobora com (Geromel et al. 2008), que observou que as condições de luz tiveram efeito significativo no teor de lipídios, onde valores maiores foram observados a pleno sol em relação à condição agroflorestal. Isso provavelmente ocorre devido aos resultados observados por Cheng et al. (2020), em que no estágio verde da maturação, que é mais prolongada em condições de sombreamento, a degradação da sacarose leva principalmente à biossíntese dos principais componentes do grão, incluindo os triacilgliceróis.

Em um estudo com *Coffea arabica* L. cv. 'Laurina' cultivado na França, Joët et al. (2009) observou que a semente de café madura apresenta a característica

bastante incomum de conter as mesmas altas concentrações de ácidos palmítico e linoleico (ou seja, cerca de 40%), resultados semelhantes foram encontrados por Anagbogu et al. (2021), porém esses ácidos graxos representam 50% do total. Das 7.000 espécies para as quais a composição de ácidos graxos do óleo de semente foi registrada no banco de dados SOFA (Aitzetmüller, Matthäus, and Friedrich 2003), apenas 38 contêm mais de 30% de 16:0 e 18:2. Joët et al. (2009) Presumem que o alto teor de 16:0 do endosperma do café resulta de sua alta taxa de transcrição de *FATb* durante a síntese de lipídios.

Pensava-se que o colesterol era importante apenas no metabolismo animal com baixas quantidades encontradas no perfil lipídico vegetal, no entanto, essa molécula agora foi identificada como um precursor chave para milhares de metabólitos bioativos de plantas, e os fosfolipídios são potencialmente importantes para a percepção sensorial dos alimentos (Anagbogu et al. 2021). Os citocromos P450s participam da biossíntese e do metabolismo de esteróis, grupo de lipídios do qual o colesterol faz parte, e hormônios esteróides, bem como no metabolismo de vários lipídios. No estudo de Oliveira et al. (2021), um aumento no nível transcricional de *CaCYP82C2* durante a maturação dos frutos foi observado para pleno sol em relação a agrofloresta, o que indica a influência da luz na regulação desse gene, no entanto, Ivamoto et al. (2017) não observou esse aumento significativo de expressão no mesmo gene.

Sant'Ana et al. (2018) identificaram 5 Single nucleotide polymorphisms (SNPs) associados ao conteúdo lipídico, a maioria desses SNPs estão localizados dentro ou próximos a genes candidatos relacionados às vias metabólicas desses compostos químicos em grãos de café, além de uma grande influência da origem geográfica nos teores de lipídios nos grãos. Os acessos silvestres apresentaram maiores teores de lipídios do que as cultivares. Esses resultados reforçam a importância de preservar o germoplasma de *C. arabica* do centro de origem (Etiópia) (Sant'Ana et al. 2018), o que também poderia auxiliar a diversidade genética de cafeeiros de *C. canephora* da Nigéria, do estudo de Anagbogu et al. (2021).

Entre os SNPs identificados por Sant'Ana et al. (2018), um é associado a lipídios (S8_25559761) e co-localizado com o gene *Cc08_g10680*, que codifica uma dessaturase de ácido graxo (*FAD2*). As enzimas dessaturase regulam a insaturação de ácidos graxos através da introdução de ligações duplas entre carbonos definidos da cadeia de acil graxo (Sant'Ana et al. 2018). Os autores relatam que outro SNP,

S2_45775221, é co-localizado com Cc02_g33380, gene que codifica uma acil-CoA sintetase de cadeia longa (LACS). As proteínas LACS ocupam uma posição crítica nas vias biossintéticas de quase todas as moléculas derivadas de ácidos graxos. As proteínas LACS esterificam ácidos graxos livres em acil-CoAs, uma etapa chave de ativação necessária para a utilização de ácidos graxos pela maioria das enzimas metabólicas de lipídios. A LACS também foi identificada como associada ao teor de lipídios em outras espécies (Sant'Ana et al. 2018).

A N-Aciltransferase catalisa a transferência de um grupo acil para um substrato. Todos os membros da superfamília das N-amiltransferases têm um mecanismo catalítico semelhante, mas variam nos tipos de grupos acil que transferem, incluindo os das três principais substâncias nutrientes, sacarídeos, lipídios e proteínas (Sant'Ana et al. 2018). Essas substâncias participam de uma via metabólica comum mediada pelo acetil-CoA no ciclo do ácido tricarboxílico e nas reações de fosforilação oxidativa. Os acilipídios têm várias funções nas plantas, e as estruturas e propriedades dos acilipídios variam muito, embora sejam todos derivados da mesma via de biossíntese de ácidos graxos e glicerolipídios. Alguns acil lipídios, incluindo o ácido jasmônico, participam das vias de sinalização. Acil-CoA e acil-CoA N-amiltransferase estão envolvidas nessas vias metabólicas, incluindo piruvato desidrogenase e piruvato, e estão envolvidas no metabolismo de açúcares no ciclo do ácido cítrico e no metabolismo de ácidos graxos e gorduras necessários para a síntese de flavonóides e policetídeos relacionados para o alongamento de ácidos graxos envolvidos em sesquiterpenos, brassinosteróides e esteróis de membrana (Sant'Ana et al. 2018).

Segundo Sant'Ana et al. (2018), entre todos os SNPs associados a traços detectados por GWAS, três mostraram fortes sinais de seleção direcional, S4_3861777, S2_45775221, e S11_29778697. Os acessos silvestres de *C. arabica* apresentaram frequências muito baixas dos alelos de referência nesses loci quando comparados às cultivares domesticadas. Essas observações indicam que a domesticação e o processo de reprodução de *C. arabica* podem ter alterado as frequências alélicas desses loci para modular o teor de lipídios e diterpenos, possivelmente resultando em bebidas diferenciadas (Sant'Ana et al. 2018).

3.1.4.1.3 Proteínas

Aminoácidos e peptídeos livres são necessários para a geração do aroma do café. O desenvolvimento do aroma do café e seu escurecimento são essencialmente considerados consequências das reações de Maillard (Montavon, Mauron, and Duruz 2003). Essas reações são iniciadas pela interação do grupo carbonila de um açúcar redutor e o grupo amino livre de um aminoácido, um peptídeo ou mesmo uma proteína. Após as reações de condensação, polímeros nitrogenados marrons chamados melanoidinas são produzidos, assim como compostos voláteis de baixo peso molecular (Montavon, Mauron, and Duruz 2003; Craig et al. 2018; Barbosa et al. 2019). Nesse contexto, as proteinases desempenham um papel fundamental no desenvolvimento da qualidade da bebida, pois alteram o perfil proteico da semente, o que provavelmente está relacionado ao sabor e aroma (Abreu et al. 2012), bem como às proteínas de armazenamento.

O nível de síntese de proteínas durante os estágios iniciais da fruta, a quantidade de proteínas de armazenamento de sementes (SSPs) no endosperma e a relação entre proteinases e seus inibidores durante o desenvolvimento da semente são fatores que determinam o teor de aminoácidos em grãos maduros (Mondego et al. 2011). A principal proteína de armazenamento no endosperma de sementes de café foi identificada como globulina 11S, da família Cupin, e representa 45% da proteína total no endosperma (correspondendo a 5-7% do peso seco do grão de café) sendo provavelmente uma das principais fontes de nitrogênio durante a torra do grão de café (Castro and Marraccini 2006; Mondego et al. 2011). Além disso, Cheng, Furtado, and Henry (2018) sugeriram a presença de outras proteínas de armazenamento potenciais, a 7S-like, SDP1, SDP1-like, glutelinA2, A3 e Patatin 6.

Mondego et al. (2011) examinaram o perfil de expressão da biblioteca SE2, que foi construída com ESTs de frutos inteiros de *C. canephora*, em estágio de desenvolvimento de 18 e 22 semanas após a polinização, e encontraram uma série de proteínas ribossomais expressas indicando um intenso esforço celular na tradução. Muitas SSPs são enriquecidas em cisteínas, que conferem alta estabilidade a essas proteínas, fator importante para proteínas de armazenamento. Essas cisteínas também são uma fonte de enxofre usada na germinação de sementes.

Abreu et al. (2012) avaliaram aspectos quantitativos e qualitativos relacionados às proteinases de grãos de café das regiões de Adamantina (região mais quente, e que produz grãos de menor qualidade) e Mococa (região mais fria e

produtora de grãos de melhor qualidade), para estabelecer uma relação entre proteinases endógenas de café, qualidade da bebida e temperatura na região de plantio.

Os ensaios de proteases demonstraram maior atividade no endosperma de frutos imaturos quando comparados com frutos maduros, o que explica parcialmente a maior quantidade de aminoácidos livres presentes em endospermas imaturos (Abreu et al. 2012). Em ensaios de atividade de gel, Abreu et al. (2012) identificaram as cisteína proteases como o tipo predominante de endopeptidase no endosperma do café, mas as serina proteinases também foram detectadas. No entanto, Mondego et al. (2011) encontraram proteínas da família das cistatinas, inibidoras de proteases, em *C. arabica* (21) e em *C. canephora* (6). Os aminoácidos livres podem estar em maior quantidade no endosperma imaturo devido à expressão diferencial de dois genes envolvidos no metabolismo da cisteína, envelhecimento proteico e metabolismo do enxofre. Esses genes codificam uma cisteína sintase (O-acetilserina (tiol) liase) (EC 4.2.99.8), enzima que sintetiza o aminoácido cisteína, e uma proteína dissulfeto isomerase (PDI), enzima que catalisa a formação e quebra de ligações dissulfeto entre resíduos de cisteína dentro de proteínas, à medida que se dobram, respectivamente (Mondego et al. 2011).

Houve diferença na expressão dos genes de cisteína proteases (CP), *CcCP1* e *CcCP4*, entre os trabalhos de Abreu et al. (2012), em que houve maior expressão de ambos os genes no estágio maduro, e Lepelley et al. (2012), em que *CcCP1* foi expresso gradualmente durante a maturação e *CcCP4* durante a germinação tardia. Os autores sugerem que essa diferença foi causada por se tratarem de espécies diferentes. Mondego et al. (2011) também identificaram a expressão de uma cisteína e uma protease aspártica preferencialmente na última fase de maturação das sementes de Arábica.

Cheng, Furtado, and Henry (2018) argumentam que há menos componentes acumulados nos dois últimos estágios de maturação investigados em seu trabalho com frutos de *Coffea arabica* cv. K7 (amarelo e vermelho), sugerindo uma possível mudança para modificação, como degradação da parede celular (degradação de pectina e celulose). Alguns ou todos os arabinogalactanos do grão de café foram combinados com proteínas e apresentados como proteína arabinogalactana (AGPs). Essa estrutura é típica nas paredes celulares das plantas e tem um papel importante na sinalização intercelular e no selamento de feridas (Cheng, Furtado, and Henry

2018). Toda essa reconfiguração demanda a atividade de proteases, o que poderia explicar a maior expressão de genes CP no final da maturação e início da germinação em Abreu et al. (2012), Lepelley et al. (2012) e Mondego et al. (2011).

Abreu et al. (2012) constataram que a maior atividade de proteinase foi nos frutos de Adamantina, e sugeriram que isso pode decompor proteínas importantes para o desenvolvimento do aroma e sabor do café, justificando a sua menor qualidade. A maturação é mais lenta em regiões com temperaturas mais baixas, e esta propriedade tem sido relacionada à maior qualidade do café. Os grãos de café cultivados em altitudes mais elevadas em Honduras produziram uma bebida com qualidade superior (Decazy et al. 2003), o que pode ser explicado pela relação inversa entre altitude e temperatura. A temperatura modula a atividade e a expressão de proteinases no endosperma de frutos de café, o que leva a variações nas quantidades e composição de aminoácidos e proteínas. (Abreu et al. 2012).

Uma análise de agrupamento hierárquico de expressão realizado por Mondego et al. (2011) indicou que dois genes de globulina 11S foram preferencialmente expressos em bibliotecas de frutos de *C. arabica*, e um foi mais altamente expresso nos estágios finais do desenvolvimento de sementes de *C. canephora* (ou seja, 42 semanas após a polinização). A coincidência de perfis de expressão de importantes proteínas de armazenamento como globulina 11S e albumina 2S juntamente com proteinases é um indício de que a liberação de aminoácidos livres ou pequenos peptídeos que contribuem para a qualidade da xícara de café podem ocorrer no estágio final de maturação do café (Mondego et al. 2011). Os autores também verificaram a prevalência de proteínas relacionadas ao metabolismo de açúcares em *C. arabica* e transdução de sinal em *C. canephora*, sugerindo que isso pode estar correlacionado com características agronômicas de cada espécie, devido à melhor qualidade de xícara de *C. arabica* e à alta tolerância a estresses específicos em *C. canephora* (Mondego et al. 2011).

3.1.4.2 METABOLISMO SECUNDÁRIO

O metabolismo secundário das plantas as protege contra infecções microbianas (fungos e bactérias) e virais, herbivoria, radiação UV, atração de polinizadores e frugívoros, e também são usados na alelopatia e sinalização. As

principais classes de metabólitos secundários (SM) produzidas pelas plantas podem ser divididas em três grupos principais: primeiro, compostos fenólicos; em segundo lugar, terpenóides/isoprenoides; e em terceiro lugar, compostos contendo nitrogênio ou enxofre, como os alcalóides e glucosinolatos, respectivamente (Aharoni and Galili 2011). Nos cafeeiros os compostos mais estudados são alcalóides (metilxantinas) e compostos fenólicos (ácidos clorogênicos).

3.1.4.2.1 *Metilxantinas*

As metilxantinas possuem a capacidade de estimular o sistema nervoso central por antagonismo aos receptores A1 e A2 de adenosina. A adenosina é um nucleosídeo endógeno que, entre outras coisas, induz ao sono (Huang, Zhang, and Qu 2014). Cafeína (1,3,7-trimetilxantina), teobromina (3,7-dimetilxantina) e teofilina (1,3-dimetilxantina) são as principais metilxantinas consumidas pela humanidade (de Paula Lima and Farah 2019). Dentre essas substâncias a mais conhecida e utilizada é a cafeína.

A cafeína é sintetizada por várias plantas eudicotiledôneas, incluindo café, cacau (*Theobroma cacao*) e chá (*Camellia sinensis*), e é sintetizada tanto em folhas de café, onde possui propriedades inseticidas (Nathanson 1984), quanto em frutos e sementes, onde inibe a germinação de sementes de espécies concorrentes (Pacheco, Pohlen, and Schulz 2008). A trigonelina e a teobromina são metilxantinas também presentes no café, em menor concentração que a cafeína. A teobromina é um substrato intermediário na biossíntese da cafeína, e a trigonelina, durante a torra, dá origem aos principais compostos de aroma do café (várias alquil-piridinas e pirróis) (Ky et al. 2001).

Embora apreciada por ser um estimulante, existem consumidores cuja resposta à cafeína é indesejável, ou, por algum motivo, precisam se privar dela eventualmente. Para esse público o mercado criou cafés descafeinados, em que a cafeína é retirada do grão ainda verde por meio de solventes como o cloreto de metileno, o acetato de etila e água, que acabam retirando também boa parte dos ácidos clorogênicos (Veracruz-Dólera et al. 2022), afetando a qualidade da bebida e seus benefícios para a saúde.

A trigonelina está envolvida na formação do ácido nicotínico (niacina ou vitamina B3), é um importante contribuinte para o sabor do café e é nutricionalmente

importante, por isso, ao contrário da cafeína, um dos objetivos dos programas de melhoramento é aumentar o seu teor nos grãos (Ky et al. 2001).

Há uma grande concentração de cafeína entre as diferentes espécies do gênero *Coffea* sendo que nas duas comercialmente mais relevantes, *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, a diferença pode chegar a ser o dobro (Perrois et al. 2015), de 0,8–1,4% e 1.7–4.0% respectivamente (Lim, Zwicker, and Wang 2019). No entanto, os padrões de flutuação da atividade biossintética da cafeína e da trigonelina em todas as plantas de *Coffea* são semelhantes (Koshiro et al. 2006). A biossíntese de cafeína parece estar relacionada ao tempo de frutificação e ao crescimento do cafeeiro (Akaffou et al. 2012; Cheng et al. 2020). Há maior teor de cafeína nas folhas jovens de ambas as espécies, em relação aos frutos (Perrois et al. 2015). No fruto, o gene da cafeína sintase (CS), foi igualmente expresso em todos os genótipos analisados por Gaspari-Pezzopane et al. (2012) na mesma fase fenológica, de verde a amarelo, podendo ser considerado um gene candidato. A trigonelina é sintetizada principalmente no pericarpo e depois é translocada para o endosperma (Koshiro et al. 2006).

Mesmo após a torra, a cafeína permanece aproximadamente na mesma concentração devido à sua termoestabilidade, o que pode auxiliar a diferenciar pós de café das duas espécies (Ogutú et al. 2022). O amargor da bebida está altamente relacionado ao grau de torra e surge da cafeína, alguns compostos heterocíclicos e peptídicos, ácidos clorogênicos e produtos de degradação do açúcar (Clifford and Willson 1985). Embora a cafeína esteja relacionada ao amargor da bebida, a composição real do composto amargo das bebidas contendo café é enormemente variável dependendo da cultivar usada e dos processos de torrefação e fermentação (Lang et al. 2020).

Há mais de 40 anos, os primeiros estudos analíticos e sensoriais sistemáticos revelaram que as metilxantinas cafeína e trigonelina, já presentes nos grãos de café cru, representam no máximo 10-30 e 1%, respectivamente, da intensidade total do sabor amargo de uma bebida de café Frank et al. (2007). Lang et al. (2020) descobriram que o amargor do café é determinado por uma interação complexa de vários compostos amargos com vários receptores humanos para esse sabor. Prewé et al. (1990) em um estudo sobre a substância mozambiosídeo, presente no café, principalmente o arábica, demonstrou que seu valor de amargor é cerca do dobro da cafeína. Embora essa molécula não seja termoestável, e provavelmente se degrade

na torra (Lang et al. 2020), isso demonstra que há mais substâncias envolvidas nesse atributo sensorial que demandam mais atenção dos pesquisadores.

A via biossintética da cafeína tem sido intensamente estudada nas últimas décadas, e foi estabelecido que ela é sucessivamente sintetizada a partir de nucleotídeos de adenina por meio de múltiplas etapas catalisadas por várias enzimas (Mizuno et al. 2003). A série final de etapas envolve a metilação da xantosina pela N-metiltransferase, produzindo 7-metilxantosina, cujo resíduo de ribose é removido pela 7-metilxantosina nucleosidase. A 7-metilxantina (7mX) resultante é metilada na posição 3-N- por N-metiltransferase, produzindo 3,7-dimetilxantina (teobromina), que é novamente metilada na posição 1-N para dar 1, 3, 7-trimetilxantina (cafeína) (Ogawa et al. 2001), então, pelo menos três N-metiltransferases são capazes de contribuir para esta via. Todas as reações requerem S adenosil-L-metionina (AdoMet) como doador de metil.

Algumas vias de passagem, por exemplo, com paraxantina, também foram sugeridas, mas em plantas de café e chá, foi confirmado que a principal via é através da teobromina. A 7-metilxantina predomina sobre a paraxantina como substrato com uma afinidade 3 vezes maior e uma velocidade de reação 20 vezes maior para as enzimas CaMXMT1 e CaMXMT2, indicando que a 7-metilxantina é o substrato genuíno Uefuji et al. (2003).

A trigonelina é sintetizada a partir do ácido nicotínico pela SAM-dependente nicotinato N-metiltransferase. O substrato, ácido nicotínico, é formado a partir de nicotinamida produzida pelo ciclo nucleotídico da piridina (PNC) e/ou mononucleotídeo de ácido nicotínico produzido pela biossíntese *de novo* de nucleotídeos piridínicos (Koshiro et al. 2006). A trigonelina possui uma forte herdabilidade não-aditiva, nuclear e também materna (cloroplastos e mitocôndrias) (Ky et al. 2001), e os genes da trigonelina sintase (*CTgS1* e *CTgS2*), possuem cerca de 80% de semelhança com os da cafeína sintase, sendo a similaridade entre *CTgS1* e *CCS1* acima de 82% (Mizuno et al. 2014).

Mizuno et al. (2003) publicaram o primeiro relato sobre a clonagem da primeira N-metiltransferase da biossíntese de cafeína em café, CmXRSI. A expressão dessa enzima foi detectada em todos os órgãos analisados (endosperma em desenvolvimento, folha jovem e botão floral), porém foi mais forte no endosperma em desenvolvimento. Como as plantas de café têm um sistema ativo de degradação de xantosina em CO e amônia por toda a via catabólica das purinas

(Lazar 2005), Mizuno et al. (2003) consideram que a produção de plantas de café transgênicas com expressão suprimida desse gene pode ser um método mais útil para preparar grãos de café descafeinados do que genes relatados anteriormente, como *CCS1*, pois a xantosina acumulada nas plantas transgênicas pode ser facilmente removida (Uefuji et al. 2003).

Uefuji et al. (2003) descreveram o isolamento de três genes que codificam *XMT*, *MXMT* e *DXMT* em plantas de café. Os autores confirmaram que, em plantas de café, a xantosina é metilada passo a passo nas posições 7-, 3- e 1-N para produzir o produto final, cafeína, como descrito por Ogawa et al. (2001). Essas variações sugerem que as plantas de café possuem múltiplas enzimas com afinidades distintas para substratos, catalisando assim a biossíntese de cafeína em uma ampla gama de concentrações de substrato disponíveis (Uefuji et al. 2003), de fato, uma cafeína sintase bifuncional de cafeeiros (*CCS1*) foi isolada por Mizuno et al. (2002). *CCS1* tem atividade de metilação dupla como o *TCS1* das folhas de chá (Mizuno et al. 2002).

As metiltransferases são reguladas por uma mistura de transcrição diferencial e evolução genômica (Maluf et al. 2009; Perrois et al. 2015), e a principal via de síntese de cafeína é mediada pela teobromina sintase, *CaMXMT1* (Ogita et al. 2004). A teobromina é o principal intermediário na biossíntese da cafeína por meio dessa via Ogita et al. (2004) produziram cafeeiros de 'Arabica' (*C. arabica*) e 'Robusta' (*C. canephora*) 100% descafeinados em tecidos embriogênicos e 70% em plântulas utilizando RNA de interferência RNAi.

Em um cruzamento interespecífico entre *Coffea Pseudozanguebariae* Bridson (sem cafeína) e *C. Canephora* Pierre, Akaffou et al. (2012) verificaram que o teor de cafeína é produzido por um gene majoritário com efeito multiplicativo, indicando que essa característica é poligênica, ou seja, na presença do gene *caf2* outros genes intrínsecos a cada espécie devem ser expressos, e indivíduos recessivos para esse gene não possuem cafeína, fato também observado por Tran et al. (2018) por meio de SNPs.

Genes relacionados à cafeína e trigonelina estão geneticamente relacionados ao teor de ácidos clorogênicos em regiões de loci de traços quantitativos (QTL), responsáveis pela acidez e amargor da bebida (Thierry Leroy et al. 2011). Spinoso-Castillo et al. (2022) investigaram a relação entre cafeína, trigonelina e 5CQA utilizando SNPs, não encontrando marcadores significantes para esse ácido. Pinto et

al. (2021) observaram, que a relação entre essas metilxantinas ocorre por meio de uma 450 monooxigenase envolvida na biossíntese de ácidos clorogênicos.

O primeiro genoma estrutural de *Coffea spp* foi publicado por Denoeud et al. (2014), com a espécie *C. canephora*. Realizando análises comparativas de NMTs de cafeína os autores demonstraram que esses genes se expandiram através de duplicações sequenciais em tandem, independentemente de genes de cacau e chá, sugerindo que a cafeína em eudicotiledôneas é de origem polifilética (Denoeud et al. 2014). Em 2017 o genoma de *C. arabica* foi publicado na base Phytozome (Goodstein et al. 2012). Posteriormente um SNP, localizado no cromossomo de café (Chr) 8, foi significativamente associado à cafeína e dois SNPs, localizados em Chr 4 e 5, foram significativamente associados a trigonelina (Spinoso-Castillo et al. 2022).

3.1.4.2.2 Ácidos clorogênicos

Os ácidos do café são geralmente divididos em duas categorias: ácidos orgânicos (OAs) e ácidos clorogênicos (CGAs). Trinta e oito ácidos orgânicos foram previamente identificados e quantificados em cafés torrados, sendo os ácidos cítrico, málico e quínico os mais proeminentes no café verde (Yeager et al. 2021). CGAs são ésteres de certos ácidos trans-cinâmicos e ácido quínico. Os ácidos cafeoilquínicos (CQA), que são derivados do ácido cafeico e do ácido quínico, são os principais polifenóis em frutos de cafeeiros (Lemos et al. 2022). O complexo CGA pode então ser dividido em subgrupos, que contêm cerca de três isômeros cada, com base no número e composição dos resíduos de acilação. Esses subgrupos incluem ácidos cafeoilquínicos (CQA), ácidos dicafeoilquínicos (diCQA), ácidos feruloilquínicos (FQA) e ácidos p-cumaroilquínicos (CoQAs) (Clifford and Willson 1985). Dentro de cada subgrupo, cada isômero é geralmente marcado com a posição de esterificação no anel de ácido quínico, como 4-o-CQA (4-CQA) (Yeager et al. 2021).

Do ponto de vista sensorial, os ácidos são indiscutivelmente um dos componentes mais importantes do café. Eles compreendem uma grande fração da massa total, chegando a 11% do grão verde e 6% do grão torrado. Até onde sabemos, um teor tão alto nunca foi observado em nenhuma outra planta, definitivamente elevando a semente de *Coffea* como modelo para a biossíntese e

acúmulo de CGA (Joët et al. 2009). Esses compostos contribuem para os atributos de acidez e amargor da bebida (Thierry Leroy et al. 2011), e as quantidades absolutas e relativas de ácidos específicos presentes nos grãos torrados afetam fortemente a qualidade final da xícara (Yeager et al. 2021). Do ponto de vista da saúde humana, esses compostos têm um importante efeito antioxidante, e seus benefícios são amplamente divulgados na literatura (Freedman et al. 2012; Nohara-Shitama et al. 2019; Kim, Je, and Giovannucci 2019).

A biossíntese de ácidos clorogênicos parece ser controlada pela atividade da família multigênica fenilpropanóide em plantas (Koshiro et al. 2007; Lepelley et al. 2007). A fenilalanina amônia liase (PAL) é a primeira enzima de entrada da via dos fenilpropanóides, produzindo fenólicos (Lepelley et al. 2012). Transcritos de *PAL1*, *C3'H* e *CCoAMT* três genes relacionados à biossíntese de ácido clorogênico foram detectados em todas as fases de crescimento do fruto, embora as quantidades fossem significativamente menores no estágio de maturação completa (Koshiro et al. 2007). Ivamoto et al. (2013), em um estudo *in silico*, encontrou duas isoformas das proteínas do gene *C3'H*.

O gene *PAL1* possui dois parálogos, *CcPAL2* e *CcPAL3*, apresentando estruturas genômicas semelhantes e codificando proteínas com sequências próximas (Lepelley et al. 2012). No entanto, apresentam níveis e padrões de expressão distintos, com seis isoformas (Ivamoto et al. 2013). Os transcritos de *CcPAL2* apareceram predominantemente em flores, pericarpo de frutas e tecidos vegetativos/lignificantes como raízes e galhos, enquanto *CcPAL1* e *CcPAL3* foram altamente expressos em frutas imaturas (Lepelley et al. 2012).

Segundo Lepelley et al. (2012) a análise da expressão do gene PAL em vários tecidos do café mostrou que dois ou três genes PAL do café são frequentemente expressos em um único tecido ou órgão, mas não necessariamente no mesmo estágio de desenvolvimento. A alta expressão de *CcPAL1* e *CcPAL3* no estágio de fruto verde pequeno se correlaciona com a alta co-expressão de *HQT* (hidroxicinamoil-CoA quinato hidroxicinamoil transferase), um gene também envolvido na biossíntese de CGA (Lepelley et al. 2012), e seus níveis de transcrição tendem a cair à medida que a quantidade de CGA cai nos estágios posteriores do desenvolvimento do grão, sugerindo que os genes são co-regulados (Lepelley et al. 2012).

Essa expressão gênica relacionada à queda da biossíntese de CGA durante a maturação é corroborada pelos níveis de diCQA, que caíram significativamente, enquanto os de CQA permaneceram relativamente estáveis, e essa queda é atribuída mais especificamente ao 3,5diCQA (Lepelley et al. 2007). Lepelley et al. (2007) sugerem que há uma redução da síntese de 3,5diCQA a partir de 5CQA, uma vez que os níveis de CGA, como porcentagem da massa seca, permanecem relativamente constantes durante o desenvolvimento do grão, enquanto os níveis de ácido quínico caem significativamente. Os resultados de CGA e diCGA sugerem que um nível constante de CQA é mantido durante o último período de desenvolvimento do grão Robusta. Koshiro et al. (2007) também encontraram uma alta atividade biossintética de 5CQA em frutos jovens (perisperma e pericarpo) e identificaram a síntese de 5CQA por meio da via fenilalanina > ácido cinâmico > 4 ácido cumárico > ácido cafeico > cafeoil-CoA > 5CQA em plantas de café.

Uma busca pela presença de ácido chiquímico nesses extratos sugere que essa molécula está presente, mas em níveis muito mais baixos do que os observados para o ácido quínico (Lepelley et al. 2007). Além disso os níveis de 5FQA são relativamente baixos no estágio inicial do desenvolvimento do grão, mas aumentam de 5 a 10 vezes conforme o desenvolvimento progride (Lepelley et al. 2007). Koshiro et al. (2007) sugerem que, o alto acúmulo de 5FQA em sementes de café após o estágio II (formação do endosperma) se deve à expressão gênica de *CCoAMTT* nesses tecidos. Farah et al. (2006) relataram que os níveis de 3,4diCQA em café verde e torrado se correlacionam fortemente com alta qualidade, e os de FQA, e seus produtos de oxidação estão associados à má qualidade da bebida. Koshiro et al. (2007) encontraram um teor muito maior de 5FQA em sementes de *C. canephora* do que em sementes de *C. arabica*. Para linhagens introgridas de *C. arabica* com híbrido de Timor, a herança da característica de acidez proporcionada pelos ácidos clorogênicos pode, de fato, diminuir a qualidade da bebida, como ocorreu na linhagem T17924 em Bertrand et al. (2003). Esses resultados apontam para a redução da qualidade de xícara com o aumento dos ácidos clorogênicos, especialmente o 5FQA.

A maioria dos transcritos relacionados aos CGAs atinge o pico de sua expressão gênica no estágio amarelo, com um aumento significativo desde o estágio verde e diminui dramaticamente no estágio vermelho. As exceções são fenilalanina amônia-linase (PAL) e 4-coumarato CoA ligase (4CL), que aumentam dos grãos de

café verde até a maturidade (Cheng, Furtado, and Henry 2018). É possível que essa via seja a responsável pelo aumento dos níveis de 5FQA observado por Lepelley et al. (2007) e Koshiro et al. (2007).

A expressão elevada de *HCT* e *CCoAOMT1* nos tecidos dos ramos da planta sugere fortemente que os produtos desses genes estão associados ao aumento da síntese de lignina, enquanto a maior expressão de *HQT* parece estar mais correlacionada com o acúmulo de CGA (Lepelley et al. 2007) fato corroborado por Joët et al. (2009) no nível transcricional, demonstrando que os CGA são parcialmente remobilizados para a síntese de lignina durante o endurecimento da parede celular. O acúmulo de transcritos de *HCT1* durante os estágios finais do desenvolvimento da semente sugere o envolvimento dessa enzima no catabolismo de CQA (Joët et al. 2009), o que foi demonstrado por Lepelley et al. (2007) com a hidrólise de 5CQA por uma enzima HCT recombinante de *C. canephora* tendo como um dos subprodutos cafeoil-CoA.

Embora *CcPAL1* e *CcPAL3* pareçam estar mais fortemente ligados a um alto acúmulo de CGA no grão de café, parece que *CcPAL2* pode contribuir mais significativamente para o acúmulo de flavonóides. A evidência para esta hipótese vem do nível substancial de expressão de *CcPAL2* na flor, um órgão conhecido por ter uma taxa relativamente importante de síntese de flavonóides (Lepelley et al. 2012). É importante notar que os três genes PAL do café são expressos quando o pericarpo da cereja do café é vermelho, sugerindo que eles podem participar da coloração do fruto (Lepelley et al. 2012).

3.1.4.2.3 Diterpenos

Todos os diterpenóides vegetais são derivados de apenas dois isoprenóides de cinco carbonos (C5), difosfato de isopentenil (IPP) e difosfato de dimetilalil (DMAPP), produzidos através do mevalonato citosólico (MVA) e da via plastidial 2-C-metil-D-eritritol -4-fosfato (MEP) (Sant'Ana et al. 2018; Oliveira et al. 2021). Diversos benefícios à saúde, incluindo anti-inflamatórios, imunomoduladores, antitumorais, anti-diabéticos, hepato, cardio e neuroprotetores são atribuídos a ao teor de diterpenos do café (Islam et al. 2018). Kahweol (KAH) e cafestol (CAF) são diterpenos exclusivos do gênero *Coffea*, eles têm uma estrutura química muito semelhante, com uma diferença de ligação dupla no hidrocarboneto aromático

composto por vinte carbonos (Sant'Ana et al. 2018; Oliveira et al. 2021). No café, proporções mais altas dos diterpenos cafestol/kahweol estão associadas a uma melhor qualidade da xícara (Barbosa et al. (2019)).

No café, os diterpenos estão presentes principalmente nas raízes, flores e acumulados nos frutos durante o seu desenvolvimento atingindo um pico em torno de 120 DAF (Sant'Ana et al. 2018). Em contraste com outros compostos bioquímicos, a quantidade total de diterpenos não muda significativamente entre os anos de cultivo e os ambientes, sugerindo que a produção desses compostos está sob forte controle genético (Sant'Ana et al. 2018). As etapas finais da biossíntese de diterpenos do café, após a formação do mevalonato 5-pirofosfato em difosfato de isopentenil (IPP), não foram bem elucidadas. Há indícios do envolvimento de citocromos (P450) (Ivamoto et al. 2017), que são a terceira maior família de genes em plantas (Oliveira et al. 2021).

Os citocromos P450s participam da biossíntese e metabolismo de esteróis e hormônios esteróides, bem como no metabolismo de vários lipídios (Oliveira et al. 2021). Segundo Sant'Ana et al. (2018) a diversificação de terpeno é impulsionada pela maquinaria que consiste em genes TPSs e monooxigenases dependentes de citocromo P450 (CYP). Este último é importante para modificar e diversificar as estruturas de terpenóides por modificação redox. Uma relação CAF/KAH está significativamente correlacionada com o perfil lipídico, e isso pode explicar porque que alguns SNPs associados a esses diterpenos também estão co-localizados com genes relacionados ao metabolismo lipídico (Sant'Ana et al. 2018).

Sant'Ana et al. (2018) identificaram 4 SNPs com cafestol, 3 com kahweol e 9 com relação cafestol/kahweol. A maioria desses SNPs está localizada dentro ou perto de genes candidatos relacionados às vias metabólicas desses compostos químicos em grãos de café arábica. Entre esses SNPs, Sant'Ana et al. (2018) identificaram um associado ao CAF (S11_29778697) co-localizado com o gene Cc11_g12750, que codifica um citocromo P450 704 (CYP704). Vários genes P450 estão envolvidos na biossíntese de metabólitos secundários, incluindo terpenóides. Outro SNP associado ao CAF está posicionado próximo a uma monooxigenase. A monooxigenase foi descrita como estando diretamente envolvida na biossíntese de terpeno vegetal (Sant'Ana et al. 2018).

Oliveira et al. (2021) observaram maior expressão do gene *CaCYP71A25* em 210 DAF no tratamento de sol pleno, Ivamoto et al. (2017) relataram maior

expressão no perisperma em 90 DAF, e que *CaCYP71A25* pode estar envolvido na formação de CAF e KAH em vez de monoterpenos (Oliveira et al. 2021). Em plantas de café, a expressão de *CaCYP71A25* pode ser explicada pela resposta ao ambiente de sol pleno em relação ao sistema de plantio agroflorestal (Ivamoto et al. 2017; Oliveira et al. 2021), o que o torna um potencial gene candidato de adaptação em condições de muita insolação. O gene *CaCYP701A3* também é mais expresso em sol pleno, no perisperma e endosperma (Ivamoto et al. 2017; Oliveira et al. 2021), esse gene pertence à família *CYP701*, cujos membros são descritos como ent-caureno oxidase, realizando três reações catalíticas nos estágios iniciais da biossíntese de giberelina e brassinosteróides, e seu último produto é considerado o precursor dos diterpenos CAF e KAH (Morrone et al. 2010; Oliveira et al. 2021). Sant'Ana et al. (2018) observaram que, provavelmente, a domesticação e o processo de criação de *C. arabica* pode ter alterado as frequências alélicas desses *loci* para modular o teor de lipídios e diterpenos, possivelmente resultando em bebidas diferenciadas, pois os acessos cultivados apresentaram maior frequência desses em relação aos acessos silvestres.

Embora a concentração de lipídios, cafestol e kahweol seja maior a pleno sol em relação ao sistema agroflorestal, apenas o aumento do teor de lipídios foi estatisticamente significativo (Oliveira et al. 2021). Da mesma forma, Geromel et al. (2008) e Delaroza et al. (2017) também observaram maior teor de lipídios em plantas de café sob maior intensidade de luz. O sistema de cultivo desempenha um papel importante na expressão dos genes, principalmente no que diz respeito à incidência de luz (Oliveira et al. 2021). Genes em vias metabólicas isoprenóides são mais altamente expressos em sol pleno (Oliveira et al. 2021).

Segundo Oliveira et al. (2021) os genes da via MVA tiveram um padrão de expressão diferente relacionado tanto ao desenvolvimento do fruto quanto ao sistema de cultivo. A expressão de *CaHMGR* foi a mais baixa de todos os genes estudados, principalmente em sol pleno. Houve um aumento em *CaHMGR* apenas a 210 DAF no sistema agroflorestal. A expressão de *HMGR* é regulada por fatores bióticos e abióticos, incluindo a intensidade da luz que regula negativamente sua expressão (Oliveira et al. 2021). Além disso, vários fotorreceptores estão envolvidos na repressão de *HMGR* em mudas de *Arabidopsis* (Rodríguez-Concepción et al. 2004), o que significa que quanto menor a incidência de luz sobre esses genes, mais expressos eles seriam (Oliveira et al. 2021).

Ivamoto et al. (2017) não encontraram diferença no perfil transcricional de CYP74A1, porém Oliveira et al. (2021) observou maior expressão em 210 DAF em ambos os sistemas de cultivo, sol pleno e agroflorestal. CYP74A1 foi descrito tanto em *Arabidopsis* quanto em soja, e está associado em ao metabolismo primário da splanças e síntese de óxido de aleno (AOS). AOS é uma das principais enzimas da biossíntese de ácido jasmônico (JA).

CaMVD foi mais expresso nos frutos no 90 DAF em sol pleno, no entanto, em agrofloresta a maior expressão foi em 210 DAF (Oliveira et al. 2021). Esta é a primeira evidência de regulação da expressão de *CaMVD* em café devido ao sistema de cultivo, e estágio de desenvolvimento do fruto (Oliveira et al. 2021). Ainda segundo os autores, *CaDXR* e *CaIDS* mostraram o mesmo padrão de expressão, sugerindo mecanismos de regulação comuns. Em sol pleno esses genes mostraram alta expressão nos estágios finais do desenvolvimento do fruto (210 DAF) (Oliveira et al. 2021). Ambos os genes *CaDXR* e *CaIDS* são da via MEP encontrada em plastídios, portanto, provavelmente são altamente responsivos à luz e podem ser importantes para a formação de pigmentos fotossintéticos, como clorofila e carotenóides.

3.1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os programas de melhoramento genético do café conilon do Incaper Nos últimos anos devido a avanços tecnológicos em várias áreas a pesquisa sobre a qualidade se iniciaram na década de 80, utilizando o melhoramento clássico. Tendo em vista que o cafeeiro é uma planta perene, de ciclo de vida longo, inicialmente o foco desses programas era o rendimento das colheitas e resistência a estresses bióticos e abióticos. A qualidade da bebida é uma característica multifatorial, portanto complexa de ser alvo desses programas, embora os atributos sensoriais da bebida café sempre tenham sido levados em consideração pelos melhoristas. Recentemente, com os avanços das ferramentas “ômicas”, a possibilidade de melhoramento com foco na qualidade se tornou mais tangível, o sequenciamento e publicação dos genomas das duas espécies comercialmente mais importantes, *C. arabica*, em 2017, e *C. canephora*, em 2014, facilitaram esse caminho e a ameaça do aquecimento global à cafeicultura o tornaram necessário.

A esse respeito, esta revisão sistemática se propôs a fornecer um panorama do que já foi realizado até aqui, abordando os marcadores moleculares ligados à composição química relacionada aos atributos sensoriais da bebida café. Observamos que esse tipo de estudo possui mais resultados relacionados aos principais metabólitos secundários, metilxantinas e ácidos clorogênicos, do que aos metabólitos primários e secundários minoritários, como taninos e flavonóides. Sugerimos que as ferramentas “ômicas”, como a metabolômica, lipidômica e proteômica, sejam mais utilizadas para desbravar a qualidade do café. É importante ressaltar que a qualidade, essa característica complexa, não poderá ser aprimorada sem uma abordagem multidisciplinar, incluindo a química de alimentos e a biotecnologia.

Embora os marcos temporais dessa trajetória científica na busca pelo melhoramento genético da qualidade da bebida café sejam muito recentes, a resposta à pergunta norteadora dessa revisão é sim, os primeiros cafeeiros com genoma editado pelo método CRISPR/CAS9 surgiram há pouco tempo (Breitler et al. 2018), por isso acreditamos que os genes candidatos apontados aqui em breve serão utilizados no melhoramento da cafeicultura.

REFERÊNCIAS

Abreu, Hellen Marília Couto de, Paula Macedo Nobile, Milton Massao Shimizu, Paula Yuri Yamamoto, Emerson Alves Silva, Carlos Augusto Colombo, and Paulo Mazzafera. 2012. “Influence of Air Temperature on Proteinase Activity and Beverage Quality in *Coffea Arabica*.” *Brazilian Journal of Botany* 35 (4): 357–76. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042012000400009>.

Aharoni, Asaph, and Gad Galili. 2011. “Metabolic Engineering of the Plant Primarysecondary Metabolism Interface.” *Current Opinion in Biotechnology, Food biotechnology Plant biotechnology*, 22 (2): 239–44. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.11.004>.

Aitzetmüller, Kurt, Bertrand Matthäus, and Holger Friedrich. 2003. “A new database for seed oil fatty acids the database SOFA.” *European Journal of Lipid Science and Technology* 105 (2): 92–103. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200390022>.

Akaffou, Doffou Sélastique, Perla Hamon, Sylvie Doulebeau, Jules Keli, Hyacinthe Legnate, Claudine Campa, Serge Hamon, Alexandre de Kochko, and Bi Irié Arsène Zoro. 2012. "Inheritance and Relationship Between Key Agronomic and Quality Traits in an Interspecific Cross Between *Coffea Pseudozanguebariae* Bridson and *C. Canephora* Pierre." *Tree Genetics & Genomes* 8 (5): 1149–62. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0503-x>.

Alves, André Luíz, Marcio Solino Pessoa, Paulo Eduardo Narcizo de Souza, Fábio Luís Partelli, Paulo Sérgio Moscon, Edson Correa da Silva, André Oliveira Guimarães, et al. 2018. "Influence of Environmental and Microclimate Factors on the Coffee Beans Quality (*C. Canephora*): Correlation Between Chemical Analysis and Stable Free Radicals." *Agricultural Sciences* 09 (09): 1173–87. <https://doi.org/10.4236/as.2018.99082>.

Anagbogu, Chinyere F., Christopher O. Ilori, Ranjana Bhattacharjee, Olufemi O. Olaniyi, and Diane M. Beckles. 2019. "Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Single Nucleotide Polymorphism-Genotype-By-Sequencing Analyses Reveal the Bean Chemical Profiles and Relatedness of *Coffea Canephora* Genotypes in Nigeria." *Plants* 8 (10): 425. <https://doi.org/10.3390/plants8100425>.

Anagbogu, Chinyere F., Jiaqi Zhou, Festus O. Olasupo, Mohammed Baba Nitsa, and Diane M. Beckles. 2021. "Lipidomic and Metabolomic Profiles of *Coffea Canephora* L. Beans Cultivated in Southwestern Nigeria." Edited by Ch Ratnasekhar. *PLOS ONE* 16 (2): e0234758. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234758>.

Anguenot, Raphaël, Binh Nguyen-Quoc, Serge Yelle, and Dominique Michaud. 2006. "Protein Phosphorylation and Membrane Association of Sucrose Synthase in Developing Tomato Fruit." *Plant Physiology and Biochemistry* 44 (5): 294–300. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.06.009>.

Barbosa, Mayara de Souza Gois, Maria Brígida dos Santos Scholz, Cíntia Sorane Good Kitzberger, and Marta de Toledo Benassi. 2019. "Correlation Between the Composition of Green *Arabica* Coffee Beans and the Sensory Quality of Coffee Brews." *Food Chemistry* 292 (September): 275–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.072>.

Bertrand, B., B. Guyot, F. Anthony, and P. Lashermes. 2003. "Impact of the *Coffea Canephora* Gene Introgression on Beverage Quality of *C.*

Arabica.” *Theoretical and Applied Genetics* 107 (3): 387–94. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1203-6>.

Breitler, Jean-Christophe, Eveline Dechamp, Claudine Campa, Leonardo Augusto Zebral Rodrigues, Romain Guyot, Pierre Marraccini, and Hervé Etienne. 2018. “CRISPR/Cas9-mediated Efficient Targeted Mutagenesis Has the Potential to Accelerate the Domestication of *Coffea Canephora*.” *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 134 (3): 383–94. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1429-2>.

Bunn, Christian, Peter Läderach, Oriana Ovalle Rivera, and Dieter Kirschke. 2015. “A Bitter Cup: Climate Change Profile of Global Production of Arabica and Robusta Coffee.” *Climatic Change* 129 (1): 89–101. <https://doi.org/10.1007/s10584-014-1306-x>.

Cação, S. M. B., T. F. Leite, I. G. F. Budzinski, T. B. dos Santos, M. B. S. Scholz, V. Carpentieri-Pipolo, D. S. Domingues, L. G. E. Vieira, and L. F. P. Pereira. 2012. “Gene Expression and Enzymatic Activity of Pectin Methylesterase During Fruit Development and Ripening in *Coffea Arabica* L.” *Genetics and Molecular Research* 11 (3): 3186–97. <https://doi.org/10.4238/2012.September.3.7>.

Carvalho, Humberto Fanelli, Giovanni Galli, Luís Felipe Ventorim Ferrão, Juliana Vieira Almeida Nonato, Lilian Padilha, Mirian Perez Maluf, Márcio Fernando Ribeiro de Resende Jr, Oliveira Guerreiro Filho, and Roberto Fritsche-Neto. 2020. “The Effect of Bienniality on Genomic Prediction of Yield in Arabica Coffee.” *Euphytica* 216 (6): 101. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02641-7>.

Castro, Renato D. De, and Pierre Marraccini. 2006. “Cytology, Biochemistry and Molecular Changes During Coffee Fruit Development.” *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18 (March): 175–99. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100013>.

Charrier, A, and J Berthaud. 1988. “Principles and Methods in Coffee Plant Breeding: *Coffea Canephora* Pierre.” *Coffee* 4: 167–97.

Cheng, Bing, Agnelo Furtado, and Robert J Henry. 2017. “Long-Read Sequencing of the Coffee Bean Transcriptome Reveals the Diversity of Full-Length Transcripts.” *GigaScience* 6 (11). <https://doi.org/10.1093/gigascience/gix086>.

Cheng, Bing, Agnelo Furtado, and Robert J. Henry. 2018. “The Coffee Bean Transcriptome Explains the Accumulation of the Major Bean Components Through Ripening.” *Scientific Reports* 8 (1): 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29842-4>.

Cheng, Bing, Heather E Smyth, Agnelo Furtado, and Robert J Henry. 2020. "Slower Development of Lower Canopy Beans Produces Better Coffee." Edited by Bjorn Usadel. *Journal of Experimental Botany* 71 (14): 4201–14. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa151>.

Clifford, M. N., and K. C Willson. 1985. *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. First. Clifford, M.N.; Willson, K.C.

Craig, Ana Paula, Bruno G. Botelho, Leandro S. Oliveira, and Adriana S. Franca. 2018. "Mid Infrared Spectroscopy and Chemometrics as Tools for the Classification of Roasted Coffees by Cup Quality." *Food Chemistry* 245 (April): 1052–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.066>.

Davis, Aaron P., Helen Chadburn, Justin Moat, Robert O'Sullivan, Serene Hargreaves, and Eimear Nic Lughadha. 2019. "High Extinction Risk for Wild Coffee Species and Implications for Coffee Sector Sustainability." *Science Advances* 5 (1): eaav3473. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav3473>.

de Paula Lima, Juliana, and Adriana Farah. 2019. "Methylxanthines in Stimulant Foods and Beverages Commonly Consumed in Brazil." *Journal of Food Composition and Analysis* 78: 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.02.001>.

Decazy, F., J. Avelino, B. Guyot, J. J. Perriot, C. Pineda, and C. Cilas. 2003. "Quality of Different Honduran Coffees in Relation to Several Environments." *Journal of Food Science* 68 (7): 2356–61. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05772.x>.

Delaroza, Fernanda, Miroslava Rakocevic, Galileu B. Malta, Patricia M. Sanchez, Roy E. Bruns, and Ieda S. Scarminio. 2017. "Factorial Design Effects of Plant Density, Pattern and Light Availability on the Caffeine, Chlorogenic Acids, Lipids, Reducing Sugars and Ash Contents of *Coffea Arabica* L. Beans and Leaves." *Analytical Methods* 9 (24): 3612–18. <https://doi.org/10.1039/C7AY00721C>.

Denoeud, France, Lorenzo Carretero-Paulet, Alexis Dereeper, Gaëtan Droc, Romain Guyot, Marco Pietrella, Chunfang Zheng, et al. 2014. "The Coffee Genome Provides Insight into the Convergent Evolution of Caffeine Biosynthesis." *Science* 345 (6201): 1181–84. <https://doi.org/10.1126/science.1255274>.

Fabbri, Sandra, Cleiton Silva, Elis Hernandez, Fábio Octaviano, André Di Thommazo, and Anderson Belgamo. 2016. "Improvements in the StArt Tool to Better Support the Systematic Review Process." In *Proceedings of the 20th International*

Conference on Evaluation and Assessment in Software Engineering, 1–5. Limerick Ireland: ACM. <https://doi.org/10.1145/2915970.2916013>.

Farah, A., M. C. Monteiro, V. Calado, A. S. Franca, and L. C. Trugo. 2006. “Correlation Between Cup Quality and Chemical Attributes of Brazilian Coffee.” *Food Chemistry* 98 (2): 373–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.032>.

Ferrão, R. G., L. H. De Muner, A. F. A. da Fonseca, and M. a. G. Ferrão. 2019. *Conilon Coffee*. Vitória, ES : Incaper, 2019.

Frank, Oliver, Simone Blumberg, Christof Kunert, and Gerhard Zehentbauer, and Thomas Hofmann*. 2007. “Structure Determination and Sensory Analysis of Bitter-Tasting 4-Vinylcatechol Oligomers and Their Identification in Roasted Coffee by Means of LC-MS/MS.” Research-Article. *ACS Publications*. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0632280>; American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/jf0632280>.

Freedman, Neal D., Yikyung Park, Christian C. Abnet, Albert R. Hollenbeck, and Rashmi Sinha. 2012. “Association of Coffee Drinking with Total and Cause-Specific Mortality.” *The New England Journal of Medicine* 366 (20): 1891–1904. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1112010>.

Gaspari-Pezzopane, Cristiana de, Nemailla Bonturi, Oliveira Guerreiro Filho, José Laércio Favarin, and Mirian Perez Maluf. 2012. “Gene Expression Profile During Coffee Fruit Development and Identification of Candidate Markers for Phenological Stages.” *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 47 (7): 972–82. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000700014>.

Geromel, Clara, Lúcia Pires Ferreira, Fabrice Davrieux, Bernard Guyot, Fabienne Ribeyre, Maria Brígida dos Santos Scholz, Luiz Filipe Protasio Pereira, et al. 2008. “Effects of Shade on the Development and Sugar Metabolism of Coffee (*Coffea Arabica* L.) Fruits.” *Plant Physiology and Biochemistry* 46 (5-6): 569–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.02.006>.

Geromel, Clara, Lúcia Pires Ferreira, Sandra Maria Carmelo Guerreiro, Aline Andréia Cavalari, David Pot, Luiz Filipe Protásio Pereira, Thierry Leroy, Luiz Gonzaga Esteves Vieira, Paulo Mazzafera, and Pierre Marraccini. 2006. “Biochemical and Genomic Analysis of Sucrose Metabolism During Coffee (*Coffea Arabica*) Fruit Development.” *Journal of Experimental Botany* 57 (12): 3243–58. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl084>.

Goodstein, David M., Shengqiang Shu, Russell Howson, Rochak Neupane, Richard D. Hayes, Joni Fazo, Therese Mitros, et al. 2012. "Phytozome: A Comparative Platform for Green Plant Genomics." *Nucleic Acids Research* 40 (D1): D1178–86. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>.

Haddaway, Neal R., Matthew J. Page, Chris C. Pritchard, and Luke A. McGuinness. 2022. "PRISMA2020: An R Package and Shiny App for Producing PRISMA 2020-Compliant Flow Diagrams, with Interactivity for Optimised Digital Transparency and Open Synthesis." *Campbell Systematic Reviews* 18 (2): e1230. <https://doi.org/10.1002/cl2.1230>.

Henry, Robert J. 2020. "Innovations in Plant Genetics Adapting Agriculture to Climate Change." *Current Opinion in Plant Biology*, Biotic interactions AGRI 2019, 56 (August): 168–73. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.11.004>.

Huang, Zhi-Li, Ze Zhang, and Wei-Min Qu. 2014. "Roles of Adenosine and Its Receptors in Sleep." In *International Review of Neurobiology*, 119:349–71. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801022-8.00014-3>.

ICO, International Coffee Organization. 2022. "Coffee Market Report 2022."

Islam, Muhammad Torequl, Shams Tabrez, Nasimudeen R. Jabir, Murtaza Ali, Mohammad Amjad Kamal, Lidiane da Silva Araujo, Jose Victor De Oliveira Santos, Ana Maria Oliveira Ferreira Da Mata, Rai Pablo Sousa De Aguiar, and Ana Amelia de Carvalho Melo Cavalcante. 2018. "An Insight into the Therapeutic Potential of Major Coffee Components." *Current Drug Metabolism* 19 (6): 544–56. <https://doi.org/10.2174/1389200219666180302154551>.

Ivamoto, Suzana Tiemi, David Pot, Sergio Dias Lannes, Douglas Silva Domingues, Luiz Gonzaga Esteves Vieira, and Luiz Filipe Protasio Pereira. 2013. "Diversidade nucleotídica de genes envolvidos na biossíntese de ácidos clorogênicos de cafeeiros." *Coffee Science - ISSN 1984-3909* 8 (2): 148–56.

Ivamoto, Suzana T., Leonardo M. Sakuray, Lucia P. Ferreira, Cíntia S. G. Kitzberger, Maria B. S. Scholz, David Pot, Thierry Leroy, Luiz G. E. Vieira, Douglas S. Domingues, and Luiz F. P. Pereira. 2017. "Diterpenes Biochemical Profile and Transcriptional Analysis of Cytochrome P450s Genes in Leaves, Roots, Flowers, and During *Coffea Arabica* L. Fruit Development." *Plant Physiology and Biochemistry* 111 (February): 340–47. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.12.004>.

Joët, Thierry, Andréina Laffargue, Jordi Salmona, Sylvie Doulbeau, Frédéric Descroix, Benoît Bertrand, Alexandre de Kochko, and Stéphane Dussert. 2009.

“Metabolic Pathways in Tropical Dicotyledonous Albuminous Seeds: *Coffea Arabica* as a Case Study.” *The New Phytologist* 182 (1): 146–62. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02742.x>.

Joët, Thierry, Jordi Salmona, Andréina Laffargue, Frédéric Descroix, and Stéphane Dussert. 2010. “Use of the Growing Environment as a Source of Variation to Identify the Quantitative Trait Transcripts and Modules of Co-Expressed Genes That Determine Chlorogenic Acid Accumulation.” *Plant, Cell & Environment* 33 (7): 1220–33. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02141.x>.

Kanter, Ulrike, Björn Usadel, François Guerinéau, Yong Li, Markus Pauly, and Raimund Tenhaken. 2005. “The Inositol Oxygenase Gene Family of *Arabidopsis* Is Involved in the Biosynthesis of Nucleotide Sugar Precursors for Cell-Wall Matrix Polysaccharides.” *Planta* 221 (2): 243–54. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1441-0>.

Kim, Youngyo, Youjin Je, and Edward Giovannucci. 2019. “Coffee Consumption and All-Cause and Cause-Specific Mortality: A Meta-Analysis by Potential Modifiers.” *European Journal of Epidemiology* 34 (8): 731–52. <https://doi.org/10.1007/s10654-019-00524-3>.

Kleinwächter, Maik, and Dirk Selmar. 2010. “Influence of Drying on the Content of Sugars in Wet Processed Green Arabica Coffees.” *Food Chemistry* 119 (2): 500–504. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.048>.

Knopp, Sven, Gerhard Bytof, and Dirk Selmar. 2006. “Influence of Processing on the Content of Sugars in Green Arabica Coffee Beans.” *European Food Research and Technology* 223 (2): 195–201. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0172-1>.

Koshiro, Yukiko, Mel C. Jackson, Riko Katahira, Ming-Li Wang, Chifumi Nagai, and Hiroshi Ashihara. 2007. “Biosynthesis of Chlorogenic Acids in Growing and Ripening Fruits of *Coffea Arabica* and *Coffea Canephora* Plants.” *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences* 62 (9-10): 731–42. <https://doi.org/10.1515/znc-2007-9-1017>.

Koshiro, Yukiko, Xin-Qiang Zheng, Ming-Li Wang, Chifumi Nagai, and Hiroshi Ashihara. 2006. “Changes in Content and Biosynthetic Activity of Caffeine and Trigonelline During Growth and Ripening of *Coffea Arabica* and *Coffea Canephora* Fruits.” *Plant Science* 171 (2): 242–50. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.03.017>.

Ky, C.-L., B. Doulebeau, B. Guyot, S. Akaffou, A. Charrier, S. Hamon, J. Louarn, and M. Noirot. 2000. “Inheritance of Coffee Bean Sucrose Content in the

Interspecific Cross Coffea Pseudozanguebariae Liberica 'dewevrei'." *Plant Breeding* 119 (2): 165–68. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00464.x>.

Ky, C.-L., B. Guyot, J. Louarn, S. Hamon, and M. Noirot. 2001. "Trigonelline Inheritance in the Interspecific *Coffea Pseudozanguebariae* C. *Liberica* Var. Dewevrei Cross." *Theoretical and Applied Genetics* 102 (4): 630–34. <https://doi.org/10.1007/s001220051690>.

Lang, Tatjana, Roman Lang, Antonella Di Pizio, Verena Karolin Mittermeier, Verena Schlagbauer, Thomas Hofmann, and Maik Behrens. 2020. "Numerous Compounds Orchestrate Coffee's Bitterness." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68 (24): 6692–6700. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01373>.

Lashermes, P., M.-C. Combes, J. Robert, P. Trouslot, A. D'Hont, F. Anthony, and A. Charrier. 1999. "Molecular Characterisation and Origin of the *Coffea Arabica* L. Genome." *Molecular and General Genetics MGG* 261 (2): 259–66. <https://doi.org/10.1007/s004380050965>.

Lazar, Thomas. 2005. "Biochemistry and Molecular and Biology of Plants B. Buchanan, W. Gruissem and R. L. Jones (Eds), American Society of Plant Physiologists (Distribution Through Wiley & Sons), Xxxix + 1367 Pp., (\$175), ISBN 0-943088-37-2 (Hardback); (\$135), ISBN 0-943088-39-9 (Paperback) (2002)." *Cell Biochemistry and Function* 23 (2): 148–48. <https://doi.org/10.1002/cbf.1131>.

Lemos, Mayara Fumiere, Nathacha de Andrade Salustriano, Mariana Merigueti de Souza Costa, Karla Lirio, Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca, Henrique Poltronieri Pacheco, Denise Coutinho Endringer, Márcio Fronza, and Rodrigo Scherer. 2022. "Chlorogenic Acid and Caffeine Contents and Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Green Beans of Conilon and Arabica Coffees Harvested with Different Degrees of Maturation." *Journal of Saudi Chemical Society* 26 (3): 101467. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101467>.

Lepelley, Maud, Mohamed Ben Amor, Nelly Martineau, Gerald Cheminade, Victoria Caillet, and James McCarthy. 2012. "Coffee Cysteine Proteinases and Related Inhibitors with High Expression During Grain Maturation and Germination." *BMC Plant Biology* 12 (March): 31. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-31>.

Lepelley, Maud, Gerald Cheminade, Nicolas Tremillon, Andrew Simkin, Victoria Caillet, and James McCarthy. 2007. "Chlorogenic Acid Synthesis in Coffee: An Analysis of CGA Content and Real-Time RT-PCR Expression of HCT, HQT,

C3H1, and CCoAOMT1 Genes During Grain Development in *C. Canephora*.” *Plant Science* 172 (5): 978–96. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.02.004>.

Leroy, Thierry, Fabien De Bellis, Hyacinthe Legnate, Edmund Kananura, Gustavo Gonzales, Luiz Felipe Pereira, Alan Carvalho Andrade, et al. 2011. “Improving the Quality of African Robustas: QTLs for Yield- and Quality-Related Traits in *Coffea Canephora*.” *Tree Genetics & Genomes* 7 (4): 781–98. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0374-6>.

Leroy, T., P. Marraccini, M. Dufour, C. Montagnon, P. Lashermes, X. Sabau, L. P. Ferreira, et al. 2005. “Construction and Characterization of a *Coffea Canephora* BAC Library to Study the Organization of Sucrose Biosynthesis Genes.” *Theoretical and Applied Genetics* 111 (6): 1032–41. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0018-z>.

Lim, Loong-Tak, Matthew Zwicker, and Xiuju Wang. 2019. “4.22 - Coffee: One of the Most Consumed Beverages in the World.” In *Comprehensive Biotechnology (Third Edition)*, edited by Murray Moo-Young, 275–85. Oxford: Pergamon. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00462-6>.

López-García, Francisco Javier, Esteban Escamilla-Prado, Alfredo Zamarripa-Colmenero, and J. Guillermo Cruz-Castillo. 2016. “Yield and Quality of Coffee Cultivars (*Coffea Arabica* L.) In Veracruz, México.” *Revista Fitotecnia Mexicana* 39 (3): 297–304.

Mahmud, M. M. Chayan, Russell Keast, Mohammadreza Mohebbi, and Robert A. Shellie. 2022. “Identifying Aroma-Active Compounds in Coffee-Flavored Dairy Beverages.” *Journal of Food Science* 87 (3): 982–97. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16071>.

Maluf, Mirian Perez, Carla Cristina da Silva, Michelle de Paula Abreu de Oliveira, Aline Gomes Tavares, Maria Bernadete Silvarolla, and Oliveira Guerreiro Filho. 2009. “Altered Expression of the Caffeine Synthase Gene in a Naturally Caffeine-Free Mutant of *Coffea Arabica*.” *Genetics and Molecular Biology* 32 (4): 802–10. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572009005000090>.

Marín-López, Sandra M, Jaime Arcila-Pulgarín, Esther C Montoya-Restrepo, and Carlos E Oliveros-Tascón. 2003. “Relación entre el estado de madurez del fruto del café y las características de beneficio, rendimiento y calidad de la bebida.” 19.

Mizuno, Kouichi, Misako Kato, Fumi Irino, Naho Yoneyama, Tatsuhito Fujimura, and Hiroshi Ashihara. 2003. “The First Committed Step Reaction of

Caffeine Biosynthesis: 7-Methylxanthosine Synthase Is Closely Homologous to Caffeine Synthases in Coffee (*Coffea Arabica* L.).” *FEBS Letters* 547 (1-3): 56–60. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)00670-7](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)00670-7).

Mizuno, Kouichi, Masahiro Matsuzaki, Shiho Kanazawa, Tetsuo Tokiwano, Yuko Yoshizawa, and Misako Kato. 2014. “Conversion of Nicotinic Acid to Trigonelline Is Catalyzed by N-methyltransferase Belonged to Motif B’ Methyltransferase Family in *Coffea Arabica*.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 452 (4): 1060–66. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.09.043>.

Mizuno, Kouichi, Akira Okuda, Misako Kato, Naho Yoneyama, Hiromi Tanaka, Hiroshi Ashihara, and Tatsuhito Fujimura. 2002. “Isolation of a New Dual-Functional Caffeine Synthase Gene Encoding an Enzyme for the Conversion of 7-Methylxanthine to Caffeine from Coffee (*Coffea Arabica* L.).” *FEBS Letters* 534 (1-3): 75–81. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)03781-x](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)03781-x).

Mondego, Jorge MC, Ramon O Vidal, Marcelo F Carazzolle, Eric K Tokuda, Lucas P Parizzi, Gustavo GL Costa, Luiz FP Pereira, et al. 2011. “An EST-based Analysis Identifies New Genes and Reveals Distinctive Gene Expression Features of *Coffea Arabica* and *Coffea Canephora*.” *BMC Plant Biology* 11 (1): 30. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-30>.

Montagnon, C., B. Guyot, C. Cilas, and T. Leroy. 1998. “Genetic Parameters of Several Biochemical Compounds from Green Coffee, *Coffea Canephora*.” *Plant Breeding* 117 (6): 576–78. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1998.tb02211.x>.

Montavon, Philippe, Anne-France Mauron, and Eliane Duruz. 2003. “Changes in Green Coffee Protein Profiles During Roasting.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (8): 2335–43. <https://doi.org/10.1021/jf020832b>.

Morrone, Dana, Xiaoming Chen, Robert M. Coates, and Reuben J. Peters. 2010. “Characterization of the Kaurene Oxidase CYP701A3, a Multifunctional Cytochrome P450 from Gibberellin Biosynthesis.” *The Biochemical Journal* 431 (3): 337–44. <https://doi.org/10.1042/BJ20100597>.

Moschetto, D., Christophe Montagnon, Bernard Guyot, Jean-Jacques Perriot, Thierry Leroy, and Albertus Eskes. 1996. “Studies on the Effect of Genotype on Cup Quality of *Coffea Canephora*.” *Tropical Science*.

Nathanson, J. A. 1984. “Caffeine and Related Methylxanthines: Possible Naturally Occurring Pesticides.” *Science (New York, N.Y.)* 226 (4671): 184–87. <https://doi.org/10.1126/science.6207592>.

Nguyen-Quoc, Binh, and Christine H. Foyer. 2001. "A Role for 'Futile Cycles' Involving Invertase and Sucrose Synthase in Sucrose Metabolism of Tomato Fruit." *Journal of Experimental Botany* 52 (358): 881–89. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.358.881>.

Nohara-Shitama, Yume, Hisashi Adachi, Mika Enomoto, Ako Fukami, Sachiko Nakamura, Shoko Kono, Nagisa Morikawa, et al. 2019. "Habitual Coffee Intake Reduces All-Cause Mortality by Decreasing Heart Rate." *Heart and Vessels* 34 (11): 1823–29. <https://doi.org/10.1007/s00380-019-01422-0>.

Ogawa, M., Y. Herai, N. Koizumi, T. Kusano, and H. Sano. 2001. "7-Methylxanthine Methyltransferase of Coffee Plants. Gene Isolation and Enzymatic Properties." *The Journal of Biological Chemistry* 276 (11): 8213–18. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009480200>.

Ogita, Shinjiro, Hirotaka Uefuji, Masayuki Morimoto, and Hiroshi Sano. 2004. "Application of RNAi to Confirm Theobromine as the Major Intermediate for Caffeine Biosynthesis in Coffee Plants with Potential for Construction of Decaffeinated Varieties." *Plant Molecular Biology* 54 (6): 931–41. <https://doi.org/10.1007/s11103-004-0393-x>.

Ogut, Collins, Sylvia Cherono, Charmaine Ntini, Mohammad Dulal Mollah, Lei Zhao, Mohammad A. Belal, and Yuepeng Han. 2020. "Evolutionary Rate Variation Among Genes Involved in Galactomannan Biosynthesis in *Coffea Canephora*." *Ecology and Evolution* 10 (5): 2559–69. <https://doi.org/10.1002/ece3.6084>.

Ogut, Collins, Sylvia Cherono, Charmaine Ntini, Lu Wang, and Yuepeng Han. 2022. "Comprehensive Analysis of Quality Characteristics in Main Commercial Coffee Varieties and Wild Arabica in Kenya." *Food Chemistry: X* 14: 100294. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100294>.

Oliveira, Fernanda Freitas de, Juarez Pires Tomaz, Bruna Silvestre Rodrigues da Silva, Tiago Benedito dos Santos, Ivamoto-Suzuki, Maria Brígida dos Santos Scholz, and Luiz Filipe Protasio Pereira. 2021. "*Coffea Arabica* L. Genes from Isoprenoid Metabolic Pathways Are More Expressed in Full Sun Cultivation Systems Than in Agroforestry Systems." *Plant Gene* 26 (June): 100287. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2021.100287>.

Pacheco, A., Juergen Pohlen, and Margot Schulz. 2008. "Allelopathic Effects of Aromatic Species Intercropped with Coffee: Investigation of Their Growth

Stimulation Capacity and Potential of Caffeine Uptake in Puebla, Mexico.” *Allelopathy Journal* 21 (January): 39–56.

Perrois, Charlène, Susan R. Strickler, Guillaume Mathieu, Maud Lepelley, Lucie Bedon, Stéphane Michaux, Jwanro Husson, Lukas Mueller, and Isabelle Privat. 2015. “Differential Regulation of Caffeine Metabolism in *Coffea Arabica* (Arabica) and *Coffea Canephora* (Robusta).” *Planta* 241 (1): 179–91. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2170-7>.

Pinto, Renan T., Thiago B. Cardoso, Luciano V. Paiva, and Vagner A. Benedito. 2021. “Genomic and Transcriptomic Inventory of Membrane Transporters in Coffee: Exploring Molecular Mechanisms of Metabolite Accumulation.” *Plant Science* 312 (November): 111018. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111018>.

Prewo, Roland, Armin Guggisberg, Annalaura Lorenzi-Riatsch, Thomas W. Baumann, and Marianne Wettstein-Bättig. 1990. “Crystal Structure of Mozambioside, a Diterpene Glycoside of *Coffea Pseudozanguebariae*.” *Phytochemistry* 29 (3): 990–92. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80065-O](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80065-O).

Privat, Isabelle, Séverine Foucrier, Anneke Prins, Thibaut Epalle, Magali Eychenne, Laurianne Kandalaft, Victoria Caillet, et al. 2008. “Differential Regulation of Grain Sucrose Accumulation and Metabolism in *Coffea Arabica* (Arabica) and *Coffea Canephora* (Robusta) Revealed Through Gene Expression and Enzyme Activity Analysis.” *New Phytologist* 178 (4): 781–97. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02425.x>.

Rodriéguez-Concepcioén, Manuel, Oriol Foreés, Jaime F. Martíéñez-Garciéa, Viéctor Gonzaález, Michael A. Phillips, Albert Ferrer, and Albert Boronat. 2004. “Distinct Light-Mediated Pathways Regulate the Biosynthesis and Exchange of Isoprenoid Precursors During Arabidopsis Seedling Development.” *The Plant Cell* 16 (1): 144–56. <https://doi.org/10.1105/tpc.016204>.

Sant’Ana, Gustavo C., Luiz F. P. Pereira, David Pot, Ivamoto, Douglas S. Domingues, Rafaelle V. Ferreira, Natalia F. Pagiatto, et al. 2018. “Genome-Wide Association Study Reveals Candidate Genes Influencing Lipids and Diterpenes Contents in *Coffea Arabica* L.” *Scientific Reports* 8 (1): 465. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18800-1>.

Santos, F. C., F. Caixeta, A. C. S. Clemente, E. V. Pinho, and S. D. V. F. Rosa. 2014. “Gene Expression of Antioxidant Enzymes and Coffee Seed Quality

During Pre- and Post-Physiological Maturity.” *Genetics and Molecular Research* 13 (4): 10983–93. <https://doi.org/10.4238/2014.December.19.21>.

Santos, F. C., A. C. S. Clemente, F. Caixeta, and S. D. V. F. Rosa. 2015. “Endo--Mannanase and -Tubulin Gene Expression During the Final Phases of Coffee Seed Maturation.” *Genetics and Molecular Research* 14 (4): 11719–28. <https://doi.org/10.4238/2015.October.2.5>.

Santos, Meline Oliveira, Helbert Rezende de Oliveira Silveira, Kamila Rezende Dázio de Souza, André Almeida Lima, Lissa Vasconcellos Vilas Boas, Bárbara Castanheira Ferrara Barbosa, Horllys Gomes Barreto, José Donizeti Alves, and Antonio Chalfun-Junior. 2018. “Antioxidant System Differential Regulation Is Involved in Coffee Ripening Time at Different Altitudes.” *Tropical Plant Biology* 11 (3): 131–40. <https://doi.org/10.1007/s12042-018-9206-2>.

Shahidi, Fereidoon, and Won Young Oh. 2020. “Lipid-Derived Flavor and Off-Flavor of Traditional and Functional Foods: An Overview.” *Journal of Food Bioactives* 10 (June). <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.10224>.

Shibamoto, Takayuki, Kimihiro Harada, Satoru Mihara, Osamu Nishimura, Kenji Yamaguchi, Akiyoshi Aitoku, and Tatsuo Fukada. 1981. “APPLICATION OF HPLC FOR EVALUATION OF COFFEE FLAVOR QUALITY.” In *The Quality of Foods and Beverages*, edited by George Charalambous and George Inglett, 311–34. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-169102-8.50028-3>.

Sobreira, Fabrício Moreira, Francisca Coelho Sobreira, and Ney Sussumu Sakiyama. 2015. “Sensory Quality of Arabica Coffee (*Coffea Arabica*) Genealogic Groups Using the Sensogram and Content Analysis,” 8.

Spinoso-Castillo, José Luis, Pérez-Rodríguez Paulino, Jericó Jabín Bello-Bello, Escamilla-Prado Esteban, Aguilar-Rincón Víctor Heber, Corona-Torres Tarsicio, García-de los Santos Gabino, and Morales-Ramos Victorino. 2022. “SNP Markers Identification by Genome Wide Association Study for Chemical Quality Traits of Coffee (*Coffea Spp.*) Germplasm.” *Molecular Biology Reports*, April. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07339-8>.

Toniutti, Lucile, Jean-Christophe Breitler, Charlie Guittin, Sylvie Doulbeau, Hervé Etienne, Claudine Campa, Charles Lambot, Juan-Carlos Herrera Pinilla, and Benoît Bertrand. 2019. “An Altered Circadian Clock Coupled with a Higher Photosynthesis Efficiency Could Explain the Better Agronomic Performance of a New

Coffee Clone When Compared with a Standard Variety.” *International Journal of Molecular Sciences* 20 (3): 736. <https://doi.org/10.3390/ijms20030736>.

Tran, Hue T. M., Thiruvarangan Ramaraj, Agnelo Furtado, Leonard Slade Lee, and Robert J. Henry. 2018a. “Use of a Draft Genome of Coffee (*Coffea Arabica*) to Identify SNPs Associated with Caffeine Content.” *Plant Biotechnology Journal* 16 (10): 1756–66. <https://doi.org/10.1111/pbi.12912>.

Tran, Hue T. M., Agnelo Furtado, Carlos Alberto Cordero Vargas, Heather Smyth, L. Slade Lee, and Robert Henry. 2018b. “SNP in the *Coffea Arabica* Genome Associated with Coffee Quality.” *Tree Genetics & Genomes* 14 (5): 72. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1282-9>.

Uefuji, Hirotaka, Shinjiro Ogita, Yube Yamaguchi, Nozomu Koizumi, and Hiroshi Sano. 2003. “Molecular Cloning and Functional Characterization of Three Distinct N-methyltransferases Involved in the Caffeine Biosynthetic Pathway in Coffee Plants.” *Plant Physiology* 132 (1): 372–80. <https://doi.org/10.1104/pp.102.019679>.

Veracruz-Dólera, Cristina, Pedro Andreo-Martínez, Nuria García-Martínez, Salvadora Martínez-López, and Luis Almela. 2022. “Contenido En Metilxantinas y Estabilidad Oxidativa de Diferentes Muestras Comerciales de Bebida de Café.” *Afinidad. Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry* 79 (595): 264–71.

Yadessa, Abebe, Burkhardt Juergen, Bekele Endashaw, Hundera Kitessa, and Goldbach Heiner. 2020. “The Major Factors Influencing Coffee Quality in Ethiopia: The Case of Wild Arabica Coffee (*Coffea Arabica* L.) From Its Natural Habitat of Southwest and Southeast Afromontane Rainforests.” *African Journal of Plant Science* 14 (6): 213–30. <https://doi.org/10.5897/AJPS2020.1976>.

Yeager, Sara E., Mackenzie E. Batali, Jean-Xavier Guinard, and William D. Ristenpart. 2021. “Acids in Coffee: A Review of Sensory Measurements and Meta-Analysis of Chemical Composition.” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 0 (0): 1–27. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1957767>.

Fonte: a autora (2022).

4 CAPÍTULO 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA NÃO-VOLÁTIL DO GRÃO E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE DA BEBIDA

C. canephora historicamente foi descrito como um café de baixa qualidade em comparação com *C. arabica*, no entanto, o conilon e o robusta brasileiros mostraram uma evolução nos padrões de qualidade nos últimos anos, com vários fatores, incluindo cultivo, processamento e pós-colheita, contribuindo para melhorar sua qualidade. Eles são classificados com qualidade sensorial igual ou maior quando comparado ao café arábica especial (Baqueta *et al.*, 2023), demonstrando que a exploração dessa qualidade ainda não está esgotada. A diferença de qualidade entre esses dois cafés em boa parte foi atribuída ao maior teor de ácidos clorogênicos (CGAs) encontrado em *C. canephora* em relação a *C. arabica*. É possível que devido a esses avanços, em uma meta-análise realizada por (Yeager *et al.*, 2021) a concentração de CGAs em arábica e robusta seja semelhante, embora essas concentrações variem muito com o nível de torra. Recentemente, com mais pesquisas sendo feitas e o avanço tecnológico, resultados inesperados como esses têm sido obtidos e publicados, assim como a descoberta de novas substâncias moduladoras do sabor da bebida (Sittipod *et al.*, 2019).

O genótipo parece predominar na expressão da qualidade da bebida e ter uma tendência em manter sua superioridade genética em diferentes ambientes. Dessa forma, ele interage com outras variáveis, dando origem a diferentes fenótipos, como resultado dessa interação (Souza *et al.*, 2021). No Brasil, maior produtor mundial de café, o trabalho dos órgãos de pesquisa, assistência técnica e extensão rural, como o Incaper, é o responsável pelo desenvolvimento dos genótipos de maior qualidade da bebida nos últimos anos. Este trabalho utiliza quatro cultivares desenvolvidas e registradas pelo Incaper e visa contribuir com o melhoramento de suas qualidades. As cultivares de *C. canephora* são compostas de diferentes clones compatíveis entre si. Essa estratégia é necessária para o cultivo dessa espécie pois ela apresenta auto-incompatibilidade, ou seja, é incapaz de gerar sementes quando se auto-fecunda. A criação de cultivares com vários clones para *C. arabica* não é necessária, pois é uma espécie auto-compatível, embora isso seja feito com o objetivo de melhorar as características dos novos genótipos (Ferrão *et al.*, 2019).

As cultivares Diamante ES8112, Jequitibá ES 8122 e Centenária ES 8132 foram registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)

em 2013, e são formadas por nove clones elite compatíveis entre si, que apresentam épocas diferenciadas de maturação (precoce, intermediária e tardia, respectivamente), estabilidade de produção, alto vigor vegetativo, boa uniformidade de maturação do frutos, grãos grandes, tolerância a seca, moderada resistência a *Hemileia vastatrix*, qualidade superior de bebida e produtividades médias de 84,00 sacas/ha e 120,00 sacas/ha em condições não irrigada e irrigada, respectivamente (Ferrão *et al.*, 2015). A acidez é o atributo com maior impacto sobre a qualidade global da bebida dos clones das cultivares 'Diamante', 'ES8122' e 'Centenária ES8132' e classificam-se como na faixa de qualidade tradicional, porém próxima à categoria superior (Mori *et al.*, 2018).

Além das cultivares de café conilon, também é analisada neste trabalho a cultivar Catuaí Vermelho IAC 81, registrada pelo instituto agrônomo de Campinas (IAC) em 1999. É uma das cultivares mais plantadas no Brasil, e originou-se como produto de recombinação a partir de um cruzamento artificial entre cafeeiros selecionados, pela produtividade, das cultivares Caturra Amarelo, IAC 476-11 e Mundo Novo IAC 374-19, de *C. arabica*. Possui boa qualidade da bebida e maturação tardia (Consórcio Pesquisa Café, 2022).

O artigo 2 apresenta a relação entre a composição química e atividade antioxidante dos grãos dos genótipos selecionados, antes e após a torra, com a qualidade sensorial de sua bebida. Devido ao grande número de variáveis quantificadas, essa relação foi analisada com o uso de estatística multivariada. Esse artigo ainda não foi publicado.

4.1 ARTIGO 2: A QUALIDADE DA BEBIDA E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO CAFÉ SÃO INFLUENCIADAS PRINCIPALMENTE PELO GENÓTIPO E NÃO PELA MATURAÇÃO.

A qualidade da bebida e a atividade antioxidante do café são influenciadas principalmente pelo genótipo e não pela maturação.

Daniele Alves Marinho^a, Arthur Merigueti de Souza Costa^b, Lian de Souza Silveira^b, Karla Lirio Soares^b, Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca^c, Fernanda Monteiro^d, Tatiana Dillenburg Saint’Pierre^d, Rachel Ann Hauser-Davis^e, Lucas Louzada Pereira^f e Rodrigo Scherer^{b,*}

^a Federal Institute of Education, Science and Technology of Espírito Santo (Ifes)

^b Pharmaceutical Science Graduate Program, Universidade Vila Velha (UVV)

^c Brazilian Agricultural Research Company/Capixaba Institute for Research, Technical Assistance e Rural Extension

^d Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro (PUC-Rio)

^e Laboratory for the evaluation and promotion of environmental health, Instituto Osvaldo Cruz (IOC), Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^f Food Science and Technology Program, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (Ifes), Campus Venda Nova do Imigrante, Espírito Santo, ES, Brazil

*Email: rodrigo.scherer@uvv.br

ABSTRACT

O estudo dos fatores envolvidos na qualidade e nas propriedades antioxidantes da bebida produzida por genótipos de café conilon brasileiro em relação ao café arábica são de fundamental importância para o melhoramento de novas cultivares de *C. canephora*. Foram avaliados a composição química, a atividade antioxidante e o perfil sensorial da bebida de três genótipos de café conilon e um de café arábica, antes e após a torra, de amostras com três percentuais de maturação, 60%, 80% e 100%. Realizou-se análises de composição centesimal, de atividade antioxidante, de compostos fenólicos totais, análise elementar, e de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina por UHPLC - DAD. Catuaí Vermelho IAC 81 e clone 306 da cultivar Centenária tiveram as maiores médias sensoriais, e se correlacionaram com os atributos da análise sensorial. Os genótipos D101 e J205 tiveram as maiores atividades antioxidantes. Os dados conjuntos mostraram diferenças entre os genótipos e não diferenças entre as amostras com diferentes percentuais de grãos maduros. Os resultados sugerem que o genótipo prevalece sobre todas as variáveis analisadas, tanto em relação à atividade antioxidante, quanto à qualidade da bebida.

keywords: Conilon; Arábica; café; maturação; composição elementar; polifenóis; UHPLC-DAD; ICP-MS; análise multivariada.

4.1.1 INTRODUÇÃO

No ano safra 2020/2021 a produção de café arábica na América do Sul reduziu enquanto a de robusta aumentou e essa tendência permanece em 2021/2022 (ICO, 2022). Esses números refletem a safra do Brasil, que é o maior exportador de café da América. Bunn et al. (2015) alertam sobre o impacto das mudanças climáticas na produção global de café, que pode levar à diminuição de 50% da área própria para essa cultura, especialmente no Brasil e no Vietnã, dois grandes produtores. O aquecimento global poderá levar à diminuição das áreas de plantio para *Coffea arabica*, que necessitará de locais de maiores altitudes, com temperaturas mais baixas. Os cenários atuais apontam menores impactos em *Coffea canephora*, por ser uma espécie mais rústica e com maior adaptação a temperaturas mais elevadas. Estudos recentes, realizados por Davis et al. (2019), mostram que cerca de 60% das espécies selvagens de café estão no processo de risco de extinção (Davis et al., 2019). Na contramão dessa previsão, a demanda por café no mundo aumenta progressivamente (ICO, 2022).

A espécie *Coffea canephora* é mais conhecida no mercado internacional como café Robusta, com exceção do Brasil, que se destaca como Café Conilon. Frequentemente considerada uma sinonímia da variedade robusta, a variedade conilon é composta por plantas de crescimento arbustivo, caules mais ramificados, folhas menores e mais alongadas de cor verde claro, frutos menores com menos mucilagem e amadurecimento precoce, alto potencial de produção, maior susceptibilidade à ferrugem (*Hemileia vastatrix*), e maior tolerância à seca, quando comparadas às plantas da variedade robusta (Ferrão et al., 2019; Ferrão et al., 2021).

Embora existam muitos dados publicados sobre a composição química do café e sua qualidade sensorial, ainda não podemos dizer que a correlação entre esses dados já foi plenamente obtida. A qualidade da bebida café é a resultante de um sistema multifatorial complexo, cujos componentes recebem a influência do genótipo do cafeeiro (Lemos et al., 2020), do ambiente (Sarmiento-Soler et al.,

2020), do manejo agrônômico pré e pós-colheita (Kazama et al., 2020; Ribeiro et al., 2018) e da forma de preparo dos grãos (Hu et al., 2020). No manejo agrônômico pré-colheita, especificamente, a nutrição mineral parece exercer um papel modulador na qualidade e na atividade antioxidante, fornecendo metais que atuam como cofatores na síntese proteica, na formação da membrana e da parede celular, na fotossíntese e em outras rotas biossintéticas (Lacerda et al., 2018; Martín et al., 1998; Rossi et al., 2019).

A literatura sugere que para muitas cultivares de café o grau de maturação dos frutos na hora da colheita é um dos fatores que mais interfere na qualidade da bebida. Em geral, durante a maturação há alterações em substâncias precursoras do aroma que resultam em notas maiores na análise sensorial, sendo o estado “cereja”, 100% maduro, o que resulta em maior qualidade (Nascimento et al., 2020). Nas lavouras de café arábica do Brasil é comum que os produtores façam a colheita com uma parte dos grãos ainda não totalmente maduros, pois sua maturação não é uniforme, o que pode depreciar o valor do café produzido (Smrke et al., 2015).

Os grãos de café possuem uma composição metálica que influencia diretamente a qualidade da bebida resultante. Estudos recentes têm demonstrado que a presença de micronutrientes, incluindo boro, cobre e zinco, pode modificar a composição química dos grãos de café, consequentemente afetando a qualidade da bebida (Clemente *et al.*, 2018). Além disso, é imperativo considerar que a presença de metais pesados, como chumbo e cromo, pode ter um impacto substancial na qualidade da bebida de café, e, de fato, algumas amostras exibiram concentrações desses metais que excedem os limites permitidos (Silva *et al.*, 2017).

Os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos, além de participarem da formação de sabor da bebida, são antioxidantes naturais e estão presentes em grande quantidade no grão (Lemos et al., 2022; Narita e Inouye, 2015). A capacidade antioxidante no café já foi amplamente relatada na literatura, como, por exemplo, em diferentes espécies (Babova et al., 2016), diferentes técnicas de processamento e torra (Somporn et al., 2011), diferentes solventes de extração (Oliveira et al., 2019) e técnicas diferentes de preparo da bebida (Jea et al., 2020), além de diferentes partes da planta (Hasanah e Suwasono, 2016).

Esse interesse deve-se à propriedade que esses compostos possuem de atuar na prevenção de doenças e comorbidades relacionadas ao estresse oxidativo, como aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos, câncer e

danos cardiovasculares (Hu et al., 2019). Os compostos fenólicos são os agentes antioxidantes naturais mais consumidos por humanos, e o café é uma importante fonte desses compostos na dieta devido ao alto teor presente na xícara e, também, pela cultura de consumo diário da bebida (Upadhyay & Rao, 2013).

Para contribuir com as lacunas que existem acerca da qualidade do café conilon, foram avaliados dados da composição química, sensorial e atividade antioxidante de diferentes genótipos da espécie, do programa de melhoramento do Incaper, em diferentes estágios de maturação, antes e após a torra dos grãos e analisadas as correlações existentes.

4.1.2 MÉTODOS

4.1.2.1 AMOSTRAS DE CAFÉ

Foram utilizados quatro genótipos de café, três de café conilon e um de café arábica, provenientes do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper).

Os genótipos de café conilon estudados foram: D101 - clone 101, componente da cultivar clonal “Diamante ES8112”, de maturação precoce, composta do agrupamento de 9 clones; J205 - clone 205, componente da cultivar clonal “Jequitibá ES8122”, de maturação média, composta do agrupamento de 9 clones e; C306 – clone 306, componente da cultivar clonal “Centenária ES8132”, de maturação tardia, composta agrupamento de 9 clones. E para café arábica, avaliou-se a cultivar Catuaí vermelho IAC 81 (C81).

As amostras de café conilon foram coletadas na Fazenda Experimental de Bananal do Norte, localizada em Cachoeiro de Itapemirim, ES (Lat.: 20°45'21.30”S Long.: 41°17'4.33”W) e, a de café arábica, na Fazenda de Venda Nova, município de Venda Nova do Imigrante - ES (Lat.: 20°22'38.56”S Long.: 41°11'54.24”W).

A colheita das amostras foi realizada em três percentuais de maturação, correspondendo a 60%, 80% e 100% de grãos maduros (estágio cereja), utilizando 5,0 kg/amostra. Realizou-se o processamento via natural, com secagem em terreiro suspenso e coberto até atingirem 11-12 % de umidade e armazenados.

Cerca de 30 dias após a secagem, as amostras foram beneficiadas, totalizando 12 tratamentos: combinação dos quatro genótipos (D101, J205, C306 e C81) e dos três percentuais de frutos maduros (60, 80 e 100).

No estudo foram avaliados o café verde e o café torrado. Para tanto, metade das amostras foram moídas, em moinho de facas e de bolas, e depois peneiradas em peneira com abertura da malha de 50 mesh, e armazenadas em sacos plásticos de polipropileno a -20 °C até as análises químicas. A outra metade foi encaminhada para o laboratório de análise e pesquisa em café (LAPC) do IFES campus Venda Nova do Imigrante, para a torra e análises do perfil sensorial, sendo que do café torrado, foram também separadas amostras para análises químicas nos laboratórios credenciados da UVV.

4.1.2.2 AVALIAÇÕES SENSORIAIS, QUÍMICAS E DE ATIVIDADES ANTIOXIDANTE

4.1.2.2.1 *Análise sensorial*

As análises de torra e sensoriais foram realizadas no Laboratório de Pesquisa e Análise em Café, LAPC, do Instituto Federal de Espírito Santo, Venda Nova do Imigrante. Foram retirados todos os defeitos das amostras de café conforme metodologia COB – Classificação Oficial Brasileira (Brasil, 2003). Para cada amostra os grãos foram separados em peneiras e apenas os grãos com granulometria acima de 13 (conilon) e 16 (arábica) foram submetidos ao processo de torrefação, conforme metodologia UCDA - Uganda Coffee Development Authority (UCDA, 2010). O processo de torra foi realizado em um torrador modelo Probatino da marca Probat© 24 horas antes da análise sensorial, segundo metodologia da SCA (SCAA, 2015). Para cada amostra torrada, foram utilizados 200g de café verde submetido à torra média, utilizando o sistema de disco de cor de classificação de torra Agtron / SCAA para determinar o grau de torra. A torra durou de 10-11 minutos, a 180°C com padrão de disco Agtron 55. Para cada amostra foi separado 100g de café torrado para análise sensorial e 100g de café torrado para posteriores análises químicas. O teste de xícara foi realizado por 06 provadores (Q-Graders), de acordo com o método proposto por Louzada et al. (2018). Cinco xícaras de cada amostra de café foram preparadas na proporção de 8,25 g de café moído para 150 mL de água a 94–

95 °C. Os parâmetros sensoriais do café consistiram em diferentes atributos: aroma, sabor, acidez, doçura/amargor, equilíbrio, retrogosto, sensação na boca/corpo, uniformidade, xícara limpa, defeitos, conjunto e média.

4.1.2.2.2 *Composição centesimal*

A composição centesimal dos cafés foi determinada de acordo com as instruções da AOAC (2016). A umidade foi realizada pelo método de secagem em estufa; cinzas, pelo método de incineração em mufla; proteínas, pelo método de Kjeldahl e lipídios, pelo método de Soxhlet. As análises foram realizadas em triplicata.

4.1.2.2.3 *Composição fenólica total*

Para a quantificação do teor de compostos fenólicos totais (TPC), foram preparados extratos etanólicos das amostras utilizando álcool 80% (1 g amostra em 10 mL de solvente). A extração foi realizada em 3 ciclos de 30 minutos em ultrassom (Elmasonic P 80 Hz - Elma®), homogeneizando as soluções entre cada ciclo, seguida por uma filtração utilizando papel filtro. Por último, os extratos foram armazenados em frasco âmbar a -20 °C. A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu de acordo com Singleton et al. (1999), adaptado para microplacas. Em placa de 96 poços, 30 µL de cada extrato diluído em etanol 80% e uma alíquota dos reagentes Folin 10% (150 µL) e carbonato de sódio 7% (120 µL) foram adicionados em cada poço. A placa permaneceu em repouso no escuro por 90 minutos e, posteriormente, foi lida em espectrofotômetro a 740 nm. Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido clorogênico (mg CAE/g) através de curva de calibração externa.

4.1.2.2.4 *Sequestro do radical livre DPPH*

A atividade antioxidante das amostras foi determinada pelo método DPPH, de acordo com Scherer e Godoy (2009). A eliminação de radicais foi calculada como se segue:

$$I(\%) = \frac{|0| - |1|}{|0|} \times 100$$

, onde Abs0 é a absorbância do branco e Abs1 é a absorbância na presença do composto de teste em diferentes concentrações. O IR50 (concentração capaz de reduzir em 50% os radicais livres) foi calculado usando uma curva de calibração na faixa linear traçando a concentração final do extrato versus o efeito de eliminação correspondente.

4.1.2.2.5 *Sequestro do radical livre ABTS*

A atividade antioxidante foi determinada de acordo com Re et al. (1999), com modificações. O cátion do radical ABTS (ABTS^{•+}) foi formado pela reação entre 7.0 mM ABTS (em 50% de etanol) e 2.45 mM persulfato de potássio (em água destilada). Este reagente foi armazenado sob refrigeração por pelo menos 24 h. Antes do uso, o reagente foi diluído com etanol a 50% até que a absorbância medida a 734 nm fosse 1.0 ($\pm$ 0.02). ABTS^{•+} (270 μ L) e os compostos (30 μ L de cada concentração) foram adicionados em microplacas de 96 poços. O branco foi de 30 μ L de etanol. Depois de reagir por 10 minutos no escuro, a leitura foi realizada a 734 nm usando um leitor de microplacas (SpectraMax 190 Microplate Reader, Molecular Devices, California, USA). A eliminação do radical foi calculada como no DPPH.

4.1.2.3 ANÁLISE ELEMENTAR POR ICP-MS

Os metais e metalóides dos grãos crus e torrados moídos foram quantificados, após extração ácida, por Espectrometria de Massa por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), empregando um espectrômetro modelo ELAN DRC II (Perkin Elmer-Sciex, Norwalk, CT, USA). Após digestão das amostras em meio ácido, sob aquecimento a 100 °C durante aproximadamente 4 horas, ocorreu o resfriamento das mesmas e o volume foi ajustado adequadamente com água ultrapura (resistividade > 18 M Ω cm) para as análises. A verificação da exatidão da metodologia foi realizada a partir da análise do material de referência certificado DORM-4 (NRC, Canadá). O sistema padrão fornecido pelo fabricante do ICP-MS, composto de nebulizador tipo Meinhard com câmara ciclônica e twister, foi utilizado para a introdução da amostra no plasma. A qualidade analítica do teste

fundamentou-se na análise em batelada de brancos das amostras e uso de material de referência certificado DORM-4 (NRC, Canadá).

4.1.2.4 ANÁLISE DE CAFEÍNA, TRIGONELINA E ÁCIDOS CLOROGÊNICOS POR UHPLC-DAD

O protocolo de extração foi feito de acordo com Belguidoum et al. (2014) modificado. Inicialmente, foram pesados 35 mg de cada amostra de café e adicionados 50 mL de água ultrapura aquecida a 95°C por 5 min. Posteriormente, as amostras foram colocadas em banho ultrassônico a 40 kHz por 20 min à temperatura ambiente, compondo um extrato aquoso de pó das amostras de café. Finalmente, os extratos foram transferidos para um balão volumétrico e o volume ajustado com água ultrapura até a concentração de 0,7 mg/mL, filtradas (0,45 µm) e injetadas no UHPLC. As análises dos compostos 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA e 4,5-diCQA, trigonelina e cafeína foram realizadas em um UHPLC (Dionex Ultimate 3000rs - Thermo Scientific) equipado com bomba quaternária, degaseificador, injetor automático e forno de coluna, acoplado a um detector DAD. Para separação, foi usada uma coluna C18 (100 x 2.1 mm, 1.8 µm - ACE Generix) a 35°C. A fase móvel utilizada foi uma solução de ácido acético 1% (A), e metanol (B), em um fluxo de 0,2 mL/min na proporção 75A:25B, em modo isocrático. A detecção dos compostos foi feita em um detector de arranjo de diodos (DAD) nos comprimentos de onda 325 nm para os ácidos clorogênicos, e 270 nm para cafeína e trigonelina. A quantificação foi realizada por curva de padronização externa com 7 pontos em triplicata. As curvas de calibração também foram utilizadas na avaliação da faixa de linearidade. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados pela relação sinal/ruído, onde o LOD foi definido como a concentração do analito que produz sinal de três vezes a amplitude do ruído, e seis vezes para o LOQ.

4.1.2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O software R (Team, 2021) foi usado em todas as análises. A ANOVA de duas vias foi utilizada para avaliar as diferenças entre as amostras, com os

testes *post hoc* adequados para comparação de médias. Para os dados conjuntos, foi realizada a análise multivariada, utilizando o dataset completo para avaliação de tendência de agrupamento, e, com as médias, uma análise fatorial de dados mistos (FAMD). Para isto foram utilizados os pacotes FactoMineR (Lê et al., 2008) e fatoextra (Kassambara e Mundt, 2020).

4.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de cinzas, proteínas e carboidratos não foram diferentes entre as maturações, porém, aumentaram percentualmente após a torra, e somente o de lipídios diminuiu ($p < 0.05$) (Tabela 1). A perda de massa do grão, por meio de substâncias que se transformam em compostos voláteis durante a torra, como vapor de água e substâncias formadoras do aroma, fazem com que o restante da composição centesimal aumente percentualmente. Parte da massa do grão na forma de lipídios forma os compostos voláteis da bebida, resultando em seu decaimento após a torra (Shahidi e Oh, 2020).

O genótipo D101 teve o maior teor de proteínas. O teor de cinzas desse genótipo também é superior, exceto em relação ao C306, cuja diferença não foi significativa ($p > 0.05$). O teor de proteínas totais ficou em torno de 15.2 e 14.6% nos conilons antes e após a torra, respectivamente, e 13.5 e 14% no arábica (Tabela 1). Esses números estão um pouco acima do reportado na literatura para arábicas e robustas verdes segundo Clifford e Willson (1985), que é ao redor de 12% para ambas as espécies.

O genótipo Catuaí tem maior teor de lipídios que os conilons ($p < 0.05$). O teor de lipídeos foi de 8.7 e 5.8% nos cafés conilon antes e após a torra, respectivamente, e de 14.4 e 12.8% no café arábica (Tabela 1). Esse teor está dentro do intervalo encontrado na literatura, e é correlacionado à característica mais aromática da bebida extraída dos cafés arábicas (Barbosa et al., 2019; Clifford e Willson, 1985).

O café arábica possui menor teor de carboidratos totais em relação a C306 e J205 nos grãos verdes, e menor que todos os conilons após a torra ($p < 0.05$) (Tabela 1). Vários trabalhos de literatura apontam maiores valores desse componente para café arábica em relação à espécie *C. canephora* (Clifford e Willson, 1985; Fischer et al., 2001; Liu et al., 2019). Com relação às concentrações de glicose e sacarose,

Lemos et al. (2020) encontraram resultados semelhantes, porém, no genótipo D108 a proporção desses açúcares foi maior no trabalho citado, inclusive comparado ao Catuaí 81. Os carboidratos totais foram quantificados em 61 e 63.7% nos conilons antes e após a torra, respectivamente, e em 57 e 58,2% no arábica (Tabela 1). Esses números estão cerca de 4,7% abaixo da média divulgada por Clifford e Willson (1985), para grãos verdes de café arábica, e cerca de 11,4% acima para grãos verdes de conilon. Esse maior teor de carboidratos colabora para uma menor diferença entre as notas sensoriais de conilons e arábicas (Tabela 1).

A análise sensorial revelou diferenças significativas entre genótipos e porcentagem de frutos maduros para o atributo média global. Destacaram com maiores pontuações (acima de 79) os tratamentos C81 100%, C81 80% , J205 60% e J205 100%. A amostra J205 100% obteve pontuação muito baixa (28) e não foi descartada da pesquisa pois serve como padrão para comparar os demais resultados com uma amostra de qualidade tão inferior. Provavelmente essa nota é resultado de um erro durante a amostragem desse café, que já foi caracterizado com pontuação acima de 79 pela equipe de melhoristas no desenvolvimento da cultivar (Ferrao et al., 2013; Ferrao et al., 2021), sendo um café de qualidade superior, com sabor e aroma que o remete ao chocolate, cacau, adocicado, caramelo e frutas vermelhas, assim como as cultivares Diamante e Centenária (Lani et al., 2015).

Durante a torra alguns açúcares, como a glicose e arabinose, diminuem por participarem das reações de Maillard, Strecker e da pirólise, contribuindo para a formação de melanoidinas e compostos voláteis. Outros açúcares, como a manose, a ramnose e a galactose, tem seu teor aumentado após a torra (Kim et al., 2021), devido à sua maior estabilidade térmica e à perda de umidade do grão, que faz com que a quantidade de carboidratos totais medido em percentual de massa seca do café se eleve.

O teor de compostos fenólicos totais foi maior nas amostras antes da torra e menor no genótipo Catuaí ($p < 0.05$) (Tabela 1). Segundo Farah e Donangelo (2006), esses valores estão dentro do intervalo da literatura para grãos verdes de *C. canephora*. No caso dos conilons, variaram de 7 a 14,4%, mas um pouco acima para o arábica, 4 a 8.4%.

A composição elementar aumentou após a torra, como esperado, devido à perda de umidade e de compostos voláteis dos grãos, no entanto, Al, Fe, Zn e Na diminuíram significativamente ($p < 0,05$). Tal resultado foi também relatado por outros

autores (Árvay et al., 2019; Singh et al., 2020) indicando que há uma perda desses elementos por volatilização (Tabela 2). Em relação à maturação dos grãos verdes, nota-se uma diminuição significativa dos elementos Mg, K, Mn e Fe, principalmente, do menor percentual de maturação (60%) para o maior (100%). Segundo Malavolta et al. (2002), as flores do cafeeiro constituem um forte dreno de nutrientes, demandados pelos frutos em formação. Ao longo da maturação a distribuição desses elementos recebe a influência de outros fatores, como a adubação mineral, a carga pendente de frutos, e a competição folha-fruto, que tende a ser maior em menores altitudes (Laviola et al., 2007), caso do presente trabalho, e que pode ter levado a uma saída e redistribuição desses elementos para outros tecidos durante o processo.

O potássio está envolvido em muitos processos fisiológicos que influenciam o metabolismo, como na concentração de carboidratos, o volume de água, a fotossíntese e o transporte de seus produtos, e a ativação de enzimas. Em muitas frutas, um suprimento alto de K pode aumentar a concentração de açúcar e, portanto, influenciar a sua qualidade sensorial (Marschner, 2011). Clemente et al. (2015), pesquisando diferentes dosagens de K em *C.arabica*, demonstrou que a razão N:K de 1:1.56 produzia uma melhor qualidade da bebida de café, e os grãos possuíam uma maior atividade de polifenoloxidase (PPO), cafeína, índice de coloração, açúcares e menores acidez total titulável, pH, condutividade elétrica e lixiviação de potássio.

Entre os genótipos, o café arábica apresentou menor concentração dos elementos Na, Ni e Co e maior dos elementos Cr, Ca e Al, exceto para o clone C306, para o qual não houve diferença. C81 e C306 apresentaram maiores concentrações de Co ($p < 0,05$) (Tabela 2). O Co é parte da coenzima cobalamina (vitamina B₁₂), importante para plantas fixadoras do nitrogênio, além disso, esse elemento está relacionado à germinação de sementes, contribuindo com o crescimento do embrião. Até a escrita deste trabalho, não foram encontrados estudos relacionando esse elemento com a qualidade do café.

Há uma maior concentração de B no genótipo J205 e de S, Ni e P em D101 ($p < 0,05$) (Tabela 2). O B afeta uma série de processos metabólicos para os quais o mecanismo subjacente ainda não foi adequadamente resolvido. Marschner (2011) relata que o acúmulo de fenóis é uma característica típica de plantas com deficiência de boro, cujo mecanismo desconhecido parece estar relacionado ao papel desse

micronutriente na formação de complexos cis-diol com certos açúcares e fenóis, os quais colaboram na formação da parede celular, resultando em paredes celulares mais frágeis. A integridade da membrana e da parede celular está relacionada à manutenção do conteúdo lipídico, que permanece protegido da peroxidação caso extravase no apoplasto, e da torra, evitando que se perca muito na forma de compostos voláteis.

Não houve diferença entre os teores de cafeína, trigonelina, 3-CQA, 3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4-CQA, 4,5-diCQA, 5-CQA e ácidos clorogênicos totais em relação aos percentuais de maturação de 60, 80 e 100%. O teor percentual de trigonelina foi reduzido com a torra, e o de cafeína aumentado levemente ($p < 0,05$) (Tabela 3). A cafeína é termicamente estável, no entanto algumas quantidades são perdidas durante a torrefação devido à capacidade da cafeína de sublimar acima de 178°C (Lang et al., 2013). Neste trabalho, ela se manteve estável, se concentrando mais nos grãos após a torra, o que produziu o pequeno aumento observado. A perda de trigonelina depende fortemente da temperatura da torra, e está associada à formação de ácido nicotínico, aumentando após a temperatura de 200°C (Casal et al., 2000). O teor de todos os ácidos clorogênicos foram reduzidos com a torra, inclusive o teor total desses ácidos ($p < 0,05$), exceto o 5-CQA ($p > 0,05$) (Tabela 3). Esse resultado também foi apontado pela redução do TPC (Tabela 1). Durante a torra esses ácidos são degradados em compostos fenólicos menores e/ou participam da formação de outras moléculas (Muñoz et al., 2020), o que causou a diferença observada.

O café arábica (C81) possui menores teores de cafeína, 3,4-diCQA, 4-CQA, 4,5-diCQA, 5-CQA, de ácidos clorogênicos totais e maior teor de trigonelina que os cafés conilons analisados ($p < 0,05$) (Tabela 3). Tais resultados estão de acordo com Lemos et al. (2022) e contrários a parte dos dados de Yeager et al. (2021), onde observaram concentrações semelhantes de CGAs entre arábicas e robustas.

J205 destacou-se com maior teor de cafeína entre todos os cafés, maior teor de trigonelina e menor teor de 4-CQA entre os conilons. D101 conta com maior teor de 3,4-diCQA e 5-CQA (Tabela 3). Embora a trigonelina esteja associada a uma boa qualidade, a nota sensorial dos clones C306 e D101 foram superiores à do clone J205 (Tabela 1). O isômero 5-CQA foi cerca de três vezes maior nos genótipos de conilon em relação ao de arábica. Yeager et al. (2021) também indicam o 5-CQA

como um marcador importante da qualidade sensorial do café, mas seu impacto, positivo ou negativo, depende do café analisado.

Os ácidos clorogênicos são parte importante da composição do grão para a qualidade da bebida. Adicionalmente, possuem atividade antioxidante, e seus benefícios à saúde têm sido pesquisados há muito tempo (Hu et al., 2019). Quanto mais intensa a torra dos grãos, mais essas substâncias são destruídas (Souza et al., 2020) e, segundo Lemos et al. (2022), a maturação é capaz de afetar sua concentração e sua atividade antioxidante de forma ainda não conhecida. A atividade antioxidante das amostras antes e após a torra, nos três níveis de maturação, 60, 80 e 100% mostraram que, similar à composição química, o genótipo é a variável mais importante para as diferenças encontradas na atividade antioxidante, uma vez que a torra e a maturação, isoladas, não alteraram a atividade significativamente. No entanto, em alguns casos, houve interação significativa entre a torra e a maturação e os genótipos, dependendo do método de análise, sendo que o método ABTS se mostrou mais sensível a essas interações.

Entre as interações, a torra diminuiu a capacidade antioxidante dos genótipos Catuaí, Centenária e Diamante nos ensaios com ABTS, e somente em Diamante nos ensaios com DPPH. Em relação ao estágio de maturação dos frutos, o genótipo Centenária mostrou leve redução da atividade antioxidante da fase 60 para 100%, em ambos os ensaios. O genótipo Diamante mostrou um leve aumento entre esses mesmos percentuais extremos de maturação, porém somente no ensaio com DPPH. O genótipo Jequitibá também mostrou redução da atividade antioxidante, nos percentuais 60 e 80% de maturação, e somente no ensaio com ABTS ($p < 0,05$) (Tabela 1).

O genótipo Catuaí apresentou a menor atividade antioxidante entre todos os cafés. No grupo dos conilons, Centenária apresentou a maior no método ABTS, e Diamante a maior no método DPPH ($p < 0,05$) (Tabela 1). A diferença entre a atividade antioxidante encontrada entre arábicas e conilons corrobora com a literatura (Babova et al., 2016; Cid e de Peña, 2016; Stelmach et al., 2015).

Mesmo com a redução apontada de TPC (Tabela 1) e de ácidos clorogênicos (Tabela 3) após a torra, a atividade antioxidante se manteve relativamente estável. Na literatura, encontram-se estudos em que grãos verdes possuem maior atividade antioxidante e polifenóis (Souza et al., 2020) e estudos em que grãos torrados possuem valores superiores (Liang et al., 2016). Durante a torra os ácidos

clorogênicos são degradados em compostos fenólicos menores e/ou participam da formação de outras moléculas (Muñoz et al., 2020), o que causou a diferença observada. Ainda segundo Muñoz et al. (2020), os produtos da degradação desses ácidos têm potencial antioxidante, que pode compensar a atividade nos grãos torrados. Scholz e Maier (1990) começaram a identificar a produção de lactonas como subproduto da hidrólise de ácidos clorogênicos durante a torra, e o trabalho de Farah et al. (2005) identificou lactonas formadas a partir de seus correspondentes ácidos clorogênicos, durante o processo. Essas lactonas são molecularmente muito semelhantes a seus precursores, possuem propriedades antioxidantes (Castillo et al., 2019), e podem explicar o fato de a atividade antioxidante não ter se alterado significativamente após a torra, ainda que o teor de ácidos clorogênicos tenha sido reduzido.

Em busca de correlações entre a composição e a atividade antioxidante das amostras dos genótipos, especialmente o de menor nota sensorial, J205, e os de maior nota sensorial, Catuaí e C306, foi realizada a análise fatorial de dados mistos (FAMD). A FAMD é um tipo de análise capaz de integrar as variáveis categóricas e quantitativas, mostrando sua correlação positiva e negativa em vários graus de significância, ou a ausência de correlação.

Antes da abordagem multivariada, para verificar se os dados poderiam ser agrupados em uma classificação hierárquica, foi utilizada a estatística de agrupamento de Hopkins adotando-se $H=0,5$ como limite (Lawson e Jurs, 1990). O resultado para os cafés verdes foi $H=0.60$, e, após a torra, o resultado do teste foi $H=0.63$. Tais resultados indicam uma tendência de agrupamento das amostras de café verde, que permanece semelhante após a torra, porém, essa tendência está fora do intervalo de confiança de 0,90 ($H \geq 0,75$) (Han et al., 2012).

A análise fatorial de dados mistos (FAMD) resultou em cinco dimensões que explicam no total, para o café verde, 84,2% da variância dos dados. Após a torra o resultado aumenta para 86,4%. No café verde, as duas primeiras dimensões representam 59,9% da variância dos dados, e no torrado, 63,3%. Isso significa que cerca de 59,9% da variabilidade total da nuvem de dados obtida do grão verde, e 63,3% obtida após sua torra, são explicadas pelo plano formado pelas duas primeiras dimensões. O limite mínimo de variância explicada ainda é objeto de discussão na literatura, é comum utilizar o mínimo de 60% de variância para a exploração dos dados.

A FAMD mostrou que as análises sensoriais, elementar, de composição centesimal, atividade antioxidante, e polifenóis por UHPLC-DAD foram eficazes para descrever as amostras. Os quatro genótipos foram bem discriminados antes e após a torra dos grãos, mas os graus de maturação, no entanto, se sobrepujaram (Figura. 1). Além disso, a variável genótipo tem uma contribuição importante nas dimensões 1, 2 e 3 da análise fatorial antes e após a torra, enquanto a variável maturação só tem uma pequena contribuição para a variância dos dados na dimensão 3, independente da torra. Esses dados sugerem que amostras com 60%, 80% e 100% de grãos maduros não podem ser discriminadas apenas com as análises realizadas, ou que, de fato, a maturação entre 60% e 100%, das cultivares e da safra deste trabalho, produziu uma bebida de qualidade homogênea.

Estes resultados se assemelham aos obtidos por outro estudo do grupo, que também utilizou as cultivares Catuaí 81 e Diamante 101 e não encontrou correlação entre as análises feitas em grãos verdes de diferentes maturações e a qualidade da bebida (Lemos et al., 2020). Smrke et al. (2015), analisando amostras de café arábica, detectou uma diminuição na concentração de di-CQAs com o aumento do grau de maturação. Nas amostras deste estudo não houve o mesmo padrão, e as concentrações se mantiveram mais ou menos constantes, mesmo no genótipo arábica C81.

No café arábica, observou-se correlação positiva entre trigonelina, ABTS, equilíbrio, sensação na boca, lipídios, DPPH, 3,5-diCQA, Al e Zn, e negativa entre proteínas, TPC(CGA), 4,5-di-CQA, cinzas, 3,4-diCQA, cafeína, total CQA, 5-CQA e 4-CQA na dimensão 1 antes da torra (Figura. 2a). A correlação positiva de ABTS e DPPH com a cultivar C81 indica uma menor atividade antioxidante nesta amostra. Farah et al. (2006) identificou uma alta correlação entre o 3,4-diCQA e uma boa qualidade sensorial em grãos de café arábica verdes. No presente estudo o arábica Catuaí se relacionou inversamente com esse ácido, mas obteve uma boa correlação com 3,5-diCQA.

Barbosa et al. (2019) encontraram relação entre proteínas e uma menor nota sensorial em grãos verdes de café arábica, de diferentes safras e processamento pós-colheita. Nas amostras de C81 a mesma tendência foi verificada. Os autores verificaram também que os lipídios separaram amostras na análise de componentes principais (PCA), mas não houve contribuição significativa dessa variável para separar cafés de qualidade alta e baixa. Neste trabalho a variável lipídios somente

contribuiu significativamente para a dimensão 1, de forma positiva, assim como o arábica C81, participando da separação desse genótipo do restante do grupo, juntamente com as duas nuances sensoriais correlacionadas aos lipídios, equilíbrio e sensação na boca, e à menor atividade antioxidante dessa cultivar.

O genótipo C306 se correlacionou positivamente na dimensão 2 com as variáveis sabor, retrogosto, conjunto, aroma, amargor/doçura, acidez, média, uniformidade, limpeza e 3-CQA e negativamente com os elementos Co, Cu, K, Mg e B, antes da torra (Figura. 2a). Dos três genótipos de conilon, Centenária obteve a maior média na análise sensorial em todas as maturações (Tabela 1). Observou-se que a dimensão de ligação desse genótipo inclui todos os atributos da análise sensorial, exceto sensação na boca e equilíbrio, intimamente relacionados aos teores de lipídios e trigonelina nessa análise (Figura 2a).

Clemente et al. (2015) e Martinez et al. (2018), em seus trabalhos com K e Cu, descreveram que a relação entre esses elementos e a qualidade sensorial da bebida café obedecia a uma função quadrática, sendo assim, a concentração ótima para essa qualidade está entre dois pontos, mínimo e máximo, e quanto mais nos afastarmos da concentração ótima em direção a esses pontos, pior é a qualidade da bebida. A extrapolação desses dados para os nossos resultados não é possível pois os autores citados mediram a concentração dos elementos K e Cu nas folhas do cafeeiro, e em nosso trabalho essa concentração foi analisada nos grãos. Porém, a maior parte dos minerais nos grãos verdes, se opuseram aos atributos da análise sensorial (Figura 2a), levando a supor que suas concentrações neste trabalho não foram ideais em relação à qualidade da bebida. Após a torra essa oposição diminui, aproximando esses elementos do grupo de ácidos clorogênicos (Figura 2b).

Após a torra, C81 se correlacionou negativamente a Total CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3-CQA, cafeína, 3,5-diCQA, Ca, 3,4-diCQA, carboidratos, Na, Fe, 4,5-di-CQA, Ni, TPC e K (Figura. 2b). Após a torra a correlação entre lipídios e seus atributos sensoriais relacionados, sensação na boca e equilíbrio, permanece estreita e oposta aos compostos fenólicos totais. Assim como antes da torra, as variáveis cinzas e proteínas continuaram se opondo ao arábica Catuaí 81 na dimensão 1, reforçando os achados de Barbosa et al. (2019) para o café arábica.

Na dimensão 2 Centenária 306 se correlacionou positivamente com amargor/doçura, retrogosto, sabor, conjunto, aroma, uniformidade, acidez, média, limpeza e Co e negativamente com proteínas e Zn (Figura. 2b). O elemento Co

esteve negativamente correlacionado ao genótipo Centenária e aos atributos sensoriais da dimensão 2 antes da torra, mas positivamente após a torra, em uma completa inversão de correlação (Figura 2a e 2b).

A FAMD se mostrou eficaz para discriminar os genótipos antes e após a torra. Yeager et al. (2021) relataram que somente as concentrações individuais das substâncias dos cafés não são suficientes para relacioná-las à sua qualidade, e sugere que, de acordo com a forma como essas substâncias se combinam no grão, a qualidade da bebida se altera. Os resultados do presente trabalho adicionam a contribuição de que essa combinação de substâncias no grão, capaz de alterar a qualidade da bebida, também altera sua capacidade antioxidante, e tem a influência preponderante do genótipo.

4.1.4 CONCLUSÕES

Os clones D101 e J205 têm uma maior atividade antioxidante e teor de polifenóis. Somente o genótipo, isoladamente, alterou a atividade antioxidante, enquanto a torra e a porcentagem de frutos maduros tiveram efeito de interação com o genótipo provocando uma leve queda ou aumento da atividade em alguns casos. TPC e ácidos clorogênicos foram reduzidos após a torra e sugere-se que sua hidrólise e transformação em lactonas causem essa diminuição pelos métodos de determinação utilizados, mantendo a atividade antioxidante estável, pois as lactonas têm essa propriedade.

Dos genótipos de conilon investigados, C306 destacou-se com maior correlação nos atributos da análise sensorial, exceto sensação na boca e equilíbrio, mais relacionados ao arábica, provavelmente devido ao seu maior teor de lipídios.

Os minerais que se destacaram se correlacionaram negativamente com todos os atributos sensoriais e outras variáveis relacionadas a uma boa qualidade sensorial. Da mesma forma, cinzas e proteínas se correlacionaram negativamente com as variáveis relacionadas a uma boa qualidade sensorial, como lipídios, trigonelina, e os atributos sensação na boca e equilíbrio, e com a cultivar arábica. Esse resultado foi similar para o genótipo de Conilon C306.

Os dados obtidos mostraram que o genótipo é a variável preditora mais importante para os agrupamentos dos cafés em relação à sua composição química, e, por consequência, à sua capacidade antioxidante e qualidade.

REFERÊNCIAS

- AOAC, 2016. Official Methods of Analysis.
- Árvay, J., Šnirc, M., Hauptvogel, M., Bilčíková, J., Bobková, A., Demková, L., Hudáček, M., Hrstková, M., Lošák, T., Král, M., Kováčik, A., Štefániková, J., 2019. Concentration of Micro- e Macro-Elements in Green e Roasted Coffee: Influence of Roasting Degree e Risk Assessment for the Consumers. Biological Trace Element Research 190, 226–233. doi:10.1007/s12011-018-1519-3
- Babova, O., Occhipinti, A., Maffei, M.E., 2016. Chemical partitioning e antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*) of different geographical origin. Phytochemistry 123, 33–39. doi:10.1016/j.phytochem.2016.01.016
- Barbosa, M. de S.G., Scholz, M.B. dos S., Kitzberger, C.S.G., Benassi, M. de T., 2019. Correlation between the composition of green Arabica coffee beans e the sensory quality of coffee brews. Food Chemistry 292, 275–280. doi:10.1016/j.foodchem.2019.04.072
- Belguidoum, K., Amira-Guebailia, H., Boulmouk, Y., Houache, O., 2014. HPLC coupled to UVvis detection for quantitative determination of phenolic compounds e caffeine in different bres of coffee in the Algerian market. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 45, 1314–1320. doi:10.1016/j.jtice.2014.03.014
- Brasil, 2003. Instrução normativa n 8, de 11 de junho de 2003. Regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru.
- Bunn, C., Läderach, P., Ovalle Rivera, O., Kirschke, D., 2015. A bitter cup: Climate change profile of global production of Arabica e Robusta coffee. Climatic Change 129, 89–101. doi:10.1007/s10584-014-1306-x
- Casal, S., Beatriz Oliveira, M., Ferreira, M.A., 2000. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid e caffeine in coffee. Food Chemistry 68, 481–485. doi:10.1016/S0308-8146(99)00228-9

Castillo, M.D. del, Iriondo-DeHond, A., Ferneez-Gomez, B., Martinez-Saez, N., Rebollo-Hernanz, M., Martín-Cabrejas, M.A., Farah, A., 2019. CHAPTER 2. Coffee Antioxidants in Chronic Diseases, in: Farah, A. (Ed.), *Coffee*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 20–56. doi:10.1039/9781788015028-00020

Cid, M.C., de Peña, M.-P., 2016. Coffee: Analysis e Composition, in: Caballero, B., Finglas, P.M., Toldrá, F. (Eds.), *Encyclopedia of Food e Health*. Academic Press, Oxford, pp. 225–231. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00185-9

Clemente, J.M., Martinez, H.E.P., Alves, L.C., Finger, F.L., Cecon, P.R., 2015. Effects of nitrogen e potassium on the chemical composition of coffee beans e on beverage quality. *Acta Scientiarum. Agronomy* 37, 297–305. doi:10.4025/actasciagron.v37i3.19063

Clemente, J. M. et al. Boron, copper, and zinc affect the productivity, cup quality, and chemical compounds in coffee beans. *Journal of food quality*, v. 2018, p. 1–14, 2018.

Clifford, M.N., Willson, K.C., 1985. *Coffee: Botany, Biochemistry e Production of Beans e Beverage*, First. ed. Clifford, M.N.; Willson, K.C.

Correia, R.M., Erade, R., Tosato, F., Nascimento, M.T., Pereira, L.L., Araújo, J.B.S., Pinto, F.E., Endringer, D.C., Padovan, M.P., Castro, E.V.R., Partelli, F.L., Filgueiras, P.R., Lacerda, V., Romão, W., 2020. Analysis of Robusta coffee cultivated in agroforestry systems (AFS) by ESI-FT-ICR MS e portable NIR associated with sensory analysis. *Journal of Food Composition e Analysis* 94, 103637. doi:10.1016/j.jfca.2020.103637

Davis, A.P., Chadburn, H., Moat, J., O'Sullivan, R., Hargreaves, S., Nic Lughadha, E., 2019. High extinction risk for wild coffee species e implications for coffee sector sustainability. *Science Advances* 5, eaav3473. doi:10.1126/sciadv.aav3473

Farah, A., de Paulis, T., Trugo, L.C., Martin, P.R., 2005. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *Journal of Agricultural e Food Chemistry* 53, 1505–1513. doi:10.1021/jf048701t

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

Farah, A., Monteiro, M.C., Calado, V., Franca, A.S., Trugo, L.C., 2006. Correlation between cup quality e chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry* 98, 373–380. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.032

FERRÃO, M. A. G.;

MENDONÇA, R. F.; FONSECA, A. F. A. da; FERRÃO, R. G.; VOLPI, P. S.; SENRA, J. F. B.; VERDIM FILHO, A. C.; COMERIO, M. Characterization and genetic diversity of *Coffea canephora* accessions in a germplasm bank in Espírito Santo, Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 21, n. 2, e36132123, 2021.

Ferrão, R.G., De Muner, L.H., Fonseca, A.F.A. da, Ferrão, M.a.G., 2019. *Conilon Coffee*. Vitória, ES : Incaper, 2019.

Fischer, M., Reimann, S., Trovato, V., Redgwell, R.J., 2001. Polysaccharides of green Arabica e Robusta coffee beans. *Carbohydrate Research* 330, 93–101. doi:10.1016/S0008-6215(00)00272-X

Han, J., Kamber, M., Pei, J. (Eds.), 2012. Front Matter, in: *Data Mining (Third Edition)*, The Morgan Kaufmann Series in Data Management Systems. Morgan Kaufmann, Boston, pp. i–v. doi:10.1016/B978-0-12-381479-1.00016-2

Hasanah, M., Suwasono, P., 2016. Antioxidant Activity of Extract e Fractions from Coffee arabica L. Leaves by DPPH Radical Scavenging Method 3, 4.

Hu, G.L., Wang, X., Zhang, L., Qiu, M.H., 2019. The sources e mechanisms of bioactive ingredients in coffee. *Food & Function* 10, 3113–3126. doi:10.1039/C9FO00288J

Hu, G., Peng, X., Gao, Y., Huang, Y., Li, X., Su, H., Qiu, M., 2020. Effect of roasting degree of coffee beans on sensory evaluation: Research from the perspective of major chemical ingredients. *Food Chemistry* 331, 127329. doi:10.1016/j.foodchem.2020.127329

ICO, I.C.O., 2022. *Coffee Market Report 2022*.

Jea, K., Jakubczyk, K., Baranowska-Bosiacka, I., Kapczuk, P., Kochman, J., Rębacz-Marón, E., Gutowska, I., 2020. Mineral Composition e Antioxidant Potential of Coffee Beverages Depending on the Brewing Method. *Foods* 9, 121. doi:10.3390/foods9020121

Kassambara, A., Mundt, F., 2020. *Factoextra: Extract e Visualize the Results of Multivariate Data Analyses*.

Kazama, E.H., da Silva, R.P., Tavares, T. de O., Correa, L.N., de Lima Estevam, F.N., Nicolau, F.E. de A., Maldonado Júnior, W., 2020. Methodology for selective coffee harvesting in management zones of yield e maturation. *Precision Agriculture* 22, 711–733. doi:10.1007/s11119-020-09751-1

Kim, Y.-J., Choi, J., Lee, G., Lee, K.-G., 2021. Analysis of furan e monosaccharides in various coffee beans. *Journal of Food Science e Technology* 58, 862–869. doi:10.1007/s13197-020-04600-5

Lacerda, J.S., Martinez, H.E.P., Pedrosa, A.W., Clemente, J.M., Santos, R.H.S., Oliveira, G.L., Jifon, J.L., 2018. Importance of Zinc for Arabica Coffee e Its Effects on the Chemical Composition of Raw Grain e Beverage Quality. *Crop Science* 58, 1360–1370. doi:10.2135/cropsci2017.06.0373

Lang, R., Yagar, E.F., Wahl, A., Beusch, A., Dunkel, A., Dieminger, N., Eggers, R., Bytof, G., Stiebitz, H., Lantz, I., Hofmann, T., 2013. Quantitative Studies on Roast Kinetics for Bioactives in Coffee. ACS Publications. doi:10.1021/jf403846g

Laviola, B.G., Martinez, H.E.P., Souza, R.B. de, Alvarez V., V.H., 2007. Dinâmica de cálcio e magnésio em folhas e frutos de *Coffea arabica*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 31, 319–329. doi:10.1590/S0100-06832007000200014

Lawson, R.G., Jurs, P.C., 1990. New index for clustering tendency e its application to chemical problems. *Journal of Chemical Information e Computer Sciences* 30, 36–41. doi:10.1021/ci00065a010

Lê, S., Josse, J., Husson, F., 2008. **FactoMineR**: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25. doi:10.18637/jss.v025.i01

Lemos, M.F., de Erade Salustriano, N., de Souza Costa, M.M., Lirio, K., da Fonseca, A.F.A., Pacheco, H.P., Endringer, D.C., Fronza, M., Scherer, R., 2022. Chlorogenic acid e caffeine contents e anti-inflammatory e antioxidant activities of green beans of conilon e arabica coffees harvested with different degrees of maturation. *Journal of Saudi Chemical Society* 26, 101467. doi:10.1016/j.jscs.2022.101467

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

Liang, N., Xue, W., Kennepohl, P., Kitts, D.D., 2016. Interactions between major chlorogenic acid isomers e chemical changes in coffee brew that affect antioxidant activities. *Food Chemistry* 213, 251–259. doi:10.1016/j.foodchem.2016.06.041

Liu, C., Yang, N., Yang, Q., Ayed, C., Linforth, R., Fisk, I.D., 2019. Enhancing Robusta coffee aroma by modifying flavour precursors in the green coffee bean. *Food Chemistry* 281, 8–17. doi:10.1016/j.foodchem.2018.12.080

Louzada, L.P., Carvalho Guarçoni, R., Soares de Souza, G., Brioschi Junior, D., Rizzo Moreira, T., Schwengber ten Caten, C., 2018. Propositions on the Optimal Number of Q-Graders e R-Graders. *Journal of Food Quality* 2018, 1–7. doi:10.1155/2018/3285452

Malavolta, E., Favarin, J.L., Malavolta, M., Cabral, C.P., Heinrichs, R., Silveira, J.S.M., 2002. Repartição de nutrientes nos ramos, folhas e flores do cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37, 1017–1022. doi:10.1590/S0100-204X2002000700016

Marschner, P. (Ed.), 2011. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3rd ed. edição. ed. Academic Press, London ; Waltham, MA.

Martinez, H.E.P., Lacerda, J.S. de, Clemente, J.M., Silva Filho, J.B. da, Pedrosa, A.W., Santos, R.H.S., Cecon, P.R., 2018. Production, chemical composition, e quality of Arabic coffee subjected to copper doses. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53, 443–452. doi:10.1590/S0100-204X2018000400006

Martín, M.J., Pablos, F., González, A.G., 1998. Characterization of green coffee varieties according to their metal content. *Analytica Chimica Acta* 358, 177–183. doi:10.1016/S0003-2670(97)00610-7

Muñoz, A.E., Hernández, S.S., Tolosa, A.R., Burillo, S.P., Olalla Herrera, M., 2020. Evaluation of differences in the antioxidant capacity e phenolic compounds of green e roasted coffee e their relationship with sensory properties. *LWT* 128, 109457. doi:10.1016/j.lwt.2020.109457

Narita, Y., Inouye, K., 2015. Chlorogenic Acids from Coffee, in: *Coffee in Health e Disease Prevention*. Elsevier, pp. 189–199. doi:10.1016/B978-0-12-409517-5.00021-8

Nascimento, L.G. do, Assis, G.A. de, Fernees, M.I. dos S., Pires, P. dos S., Carvalho, F.J., Araújo, N.O. de, 2020. Mulching na cafeicultura: Efeitos na produtividade, maturação, formato dos grãos e qualidade de bebida. *Research, Society e Development* 9, e765997727. doi:10.33448/rsd-v9i9.7727

Oliveira, E.C. da S., Guarçoni, R.V.C., Castro, E.V.R. de, Castro, M.G. de, Pereira, L.L., 2020. Chemical e sensory perception of robusta coffees under wet processing 15, e151672–e151672. doi:10.25186/v15i.1672

Oliveira, É.R., Silva, R.F., Santos, P.R., Queiroz, F., 2019. Potential of alternative solvents to extract biologically active compounds from green coffee beans e its residue from the oil industry. *Food e Bioproducts Processing* 115, 47–58. doi:10.1016/j.fbp.2019.02.005

Prakash, I., R, S.S., P, S.H., Kumar, P., Om, H., Basavaraj, K., Murthy, P.S., 2022. Metabolomics e volatile fingerprint of yeast fermented robusta coffee: A value added coffee. *LWT* 154, 112717. doi:10.1016/j.lwt.2021.112717

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology e Medicine* 26, 1231–1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3

Ribeiro, L.S., Evangelista, S.R., da Cruz Pedrozo Miguel, M.G., van Mullem, J., Silva, C.F., Schwan, R.F., 2018. Microbiological e chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation. *Annals of Microbiology* 68, 705–716. doi:10.1007/s13213-018-1377-4

Rossi, L., Fedenia, L.N., Sharifan, H., Ma, X., Lombardini, L., 2019. Effects of foliar application of zinc sulfate e zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Plant Physiology e Biochemistry* 135, 160–166. doi:10.1016/j.plaphy.2018.12.005

Silva, S. da. et al. Determination of heavy metals in the roasted and ground coffee beans and brew. *African journal of agricultural research*, v. 12, n. 4, p. 221–228, 2017.

Sarmiento-Soler, A., Vaast, P., Hoffmann, M.P., Jassogne, L., van Asten, P., Graefe, S., Rötter, R.P., 2020. Effect of cropping system, shade cover e altitudinal gradient on coffee yield components at Mt. Elgon, Ugea. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 295, 106887. doi:10.1016/j.agee.2020.106887

SCAA, 2015. SCAA Protocols | Cupping Specialty Coffee.

Scherer, R., Godoy, H.T., 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112, 654–658. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.026

Scholz, B.M., Maier, H.G., 1990. Isomers of quinic acid e quinide in roasted coffee. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 190, 132–134. doi:10.1007/BF01193483

Shahidi, F., Oh, W.Y., 2020. Lipid-derived flavor e off-flavor of traditional e functional foods: An overview. *Journal of Food Bioactives* 10. doi:10.31665/JFB.2020.10224

Singh, S., Oswal, M., Behera, B.R., Kumar, A., Santra, S., Acharya, R., Singh, K.P., 2020. PIXE analysis of green e roasted coffee beans e filter coffee powder for the inter-comparison study of major, minor e trace elements. *AIP Conference Proceedings* 2220, 130032. doi:10.1063/5.0001751

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. [14] Analysis of total phenols e other oxidation substrates e antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 152–178. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Smrke, S., Krosiakova, I., Gloess, A.N., Yeretizian, C., 2015. Differentiation of degrees of ripeness of Catuai e Tipica green coffee by chromatographical e statistical techniques. *Food Chemistry* 174, 637–642. doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.060

Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisut, P., Siriamornpun, S., 2011. Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics e volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. Cv. Catimor). *International Journal of Food Science & Technology* 46, 2287–2296. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02748.x

Souza, L. dos S. de, Horta, I.P.C., Rosa, L. de S., Lima, L.G.B., Rosa, J.S. da, Montenegro, J., Santos, L. da S., Castro, R.B.N. de, Freitas-Silva, O., Junger Teodoro, A., 2020. Effect of the roasting levels of *Coffea arabica* L. Extracts on their potential antioxidant capacity e antiproliferative activity in human prostate cancer cells. *RSC Advances* 10, 30115–30126. doi:10.1039/D0RA01179G

Stelmach, E., Pohl, P., Szymczycha-Madeja, A., 2015. The content of Ca, Cu, Fe, Mg e Mn e antioxidant activity of green coffee brews. *Food Chemistry* 182, 302–308. doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.105

Team, R.C., 2021. R: A Language e Environment for Statistical Computing.

UCDA, 2010. Robusta coffee tasting protocol.

Yeager, S.E., Batali, M.E., Guinard, J.-X., Ristenpart, W.D., 2021. Acids in coffee: A review of sensory measurements e meta-analysis of chemical composition. *Critical Reviews in Food Science e Nutrition* 0, 1–27. doi:10.1080/10408398.2021.1957767

TABELA 1 — COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TPC) E ANÁLISE SENSORIAL DE AMOSTRAS DE CAFÉ. GRÃOS VERDES: DIAMANTE VERDE (GD); JEQUITIBÁ VERDE (GJ); CENTENÁRIA VERDE (GC); CATUAÍ VERDE (GCAT). GRÃOS TORRADOS: DIAMANTE TORRADO(RD), JEQUITIBÁ TORRADO (RJ), CENTENÁRIA TORRADO (RC), CATUAÍ TORRADO (RCAT). RIP_60: 60% DE GRÃOS MADUROS, RIP_80: 80% DE GRÃOS MADUROS, RIP_100: 100% DE GRÃOS MADUROS. MÉDIAS DA PONTUAÇÃO SENSORIAL SEGUIDAS PELAS MESMAS LETRAS EM MAIÚSCULO NÃO DIFEREM PELO TESTE DE KRUSKAL-WALLIS SEGUIDO DE POST HOC DE CONOVER-IMAN ($P \geq 0,5\%$) NOS PERCENTUAIS DE MATURAÇÃO, E EM MINÚSCULO EM RELAÇÃO AO GENÓTIPO. NO RESTANTE DAS COLUNAS AS LETRAS EM MAIÚSCULO COMPARAM OS MESMOS NÍVEIS DE MATURAÇÃO, ANTES E APÓS A TORRA, E AS MINÚSCULAS COMPARAM OS NÍVEIS DE MATURAÇÃO NO MESMO GENÓTIPO.

Genótipos	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	DPPH (IR50 $\mu\text{g/mL}$)	ABTS (IR50 $\mu\text{g/mL}$)	TPC (g CAE/100g)	Pontuação sensorial
<i>Grãos verdes</i>									
GD60	12,4 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,2 Aa	16,59 $\pm$ 0,47 Aa	7,91 $\pm$ 0,35 Aa	59,47 $\pm$ 0,02 Ac	97,1 $\pm$ 6,5 Aa	52,3 $\pm$ 2,6 Aa	11,6 $\pm$ 0,3 Ab	-
GD80	13,0 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,1 Aa	16,33 $\pm$ 0,00 Aa	7,97 $\pm$ 0,39 Aa	59,69 $\pm$ 0,11 Ab	73,8 $\pm$ 2,8 Aa	47,6 $\pm$ 2,8 Aa	8,8 $\pm$ 0,2 Ac	-
GD100	11,8 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,02 Aa	15,12 $\pm$ 0,42 Aa	9,14 $\pm$ 0,29 Aa	60,42 $\pm$ 0,37 Aa	76,9 $\pm$ 7,0 Aa	51,0 $\pm$ 0,4 Aa	14,0 $\pm$ 0,4 Aa	-
GJ60	12,9 $\pm$ 0,1	4,5 $\pm$ 0,03 Aa	15,08 $\pm$ 0,13 Aa	9,45 $\pm$ 0,26 Aa	59,37 $\pm$ 0,11 Ac	91,1 $\pm$ 2,3 Ac	48,8 $\pm$ 3,0 Aa	13,4 $\pm$ 0,6 Aa	-
GJ80	12,2 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,07 Aa	13,81 $\pm$ 0,24 Ac	8,72 $\pm$ 0,22 Aa	62,42 $\pm$ 0,26 Aa	107 $\pm$ 1,9 Aa	56,4 $\pm$ 2,4 Aa	12,6 $\pm$ 0,4 Aa	-
GJ100	12,2 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,08 Aa	14,16 $\pm$ 0,06 Ab	9,05 $\pm$ 0,40 Aa	61,72 $\pm$ 0,22 Ab	104 $\pm$ 2,8 Aa	56,0 $\pm$ 1,7 Aa	13,3 $\pm$ 0,0 Aa	-
GC60	11,9 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,02 Ab	14,68 $\pm$ 0,14 Aa	9,36 $\pm$ 0,21 Aa	61,11 $\pm$ 0,36 Aa	84,1 $\pm$ 4,2 Aa	45,3 $\pm$ 1,4 Ac	15,0 $\pm$ 0,9 Aa	-
GC80	11,6 $\pm$ 0,4	4,4 $\pm$ 0,06 Aab	14,73 $\pm$ 0,19 Aa	9,01 $\pm$ 0,26 Aa	61,49 $\pm$ 0,03 Aa	100 $\pm$ 2,5 Aa	58,6 $\pm$ 3,0 Aa	11,9 $\pm$ 0,3 Ab	-
GC100	11,3 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,19 Aa	13,29 $\pm$ 0,33 Aa	8,28 $\pm$ 0,31 Aa	63,77 $\pm$ 0,45 Aa	100 $\pm$ 4,2 Aa	49,8 $\pm$ 2,9 Ab	12,5 $\pm$ 0,4 Aa	-
GCAT60	11,8 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,02 Aa	13,54 $\pm$ 0,48 Aa	11,21 $\pm$ 0,61 Aa	59,16 $\pm$ 0,23 Aa	128 $\pm$ 4,9 Aa	86,5 $\pm$ 2,2 Aa	9,17 $\pm$ 0,1 Aa	-
GCAT80	11,5 $\pm$ 0,2	3,9 $\pm$ 0,05 Aa	13,26 $\pm$ 0,22 Aa	14,56 $\pm$ 0,21 Aa	56,29 $\pm$ 0,45 Ab	122 $\pm$ 3,8 Aa	83,9 $\pm$ 1,6 Aa	8,68 $\pm$ 0,5 Aa	-
GCAT100	12,0 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,03 Aa	13,69 $\pm$ 0,27 Aa	14,41 $\pm$ 0,36 Aa	55,46 $\pm$ 0,35 Ab	125 $\pm$ 2,3 Aa	85,4 $\pm$ 1,9 Aa	9,05 $\pm$ 0,2 Aa	-
<i>Grãos torrados</i>									
RD60	3,22 $\pm$ 0,2	5,01 $\pm$ 0,0 Aa	15,68 $\pm$ 0,01 Aa	5,39 $\pm$ 0,1 Aa	62,9 $\pm$ 0,5 Aa	95,1 $\pm$ 0,9 Aa	59,6 $\pm$ 2,6 Aa	11,3 $\pm$ 0,4 Aa	75,5 Aa
RD80	2,96 $\pm$ 0,1	4,94 $\pm$ 0,1 Aa	15,64 $\pm$ 0,24 Aa	5,58 $\pm$ 0,1 Aa	62,8 $\pm$ 0,5 Aa	96,9 $\pm$ 0,1 Aa	57,1 $\pm$ 1,6 Aa	11,5 $\pm$ 0,3 Aa	74,6 Aa
RD100	2,64 $\pm$ 0,1	4,90 $\pm$ 0,1 Aa	15,84 $\pm$ 0,14 Aa	5,67 $\pm$ 0,2 Aa	62,5 $\pm$ 0,7 Aa	95,3 $\pm$ 0,4 Aa	55,9 $\pm$ 2,6 Aa	12,1 $\pm$ 0,6 Aa	70,0 Ab
RJ60	2,84 $\pm$ 0,1	4,60 $\pm$ 0,0 Aa	15,24 $\pm$ 0,18 Aa	5,26 $\pm$ 0,1 Aa	64,4 $\pm$ 0,4 Aa	105 $\pm$ 3,2 Aa	49,8 $\pm$ 2,0 Aa	11,0 $\pm$ 0,3 A	75,9 Aa
RJ80	3,14 $\pm$ 0,1	4,46 $\pm$ 0,0 Ab	14,87 $\pm$ 0,40 Aa	5,32 $\pm$ 0,1 Aa	65,0 $\pm$ 0,8 Aa	103 $\pm$ 2,6 Aa	52,8 $\pm$ 2,6 Aa	10,3 $\pm$ 1,0 A	77,3 Aa
RJ100	2,88 $\pm$ 0,2	4,37 $\pm$ 0,1 Ab	14,73 $\pm$ 0,30 Aa	5,80 $\pm$ 0,4 Aa	63,8 $\pm$ 0,7 Aa	96,9 $\pm$ 0,4 Aa	51,7 $\pm$ 1,6 Aa	12,2 $\pm$ 0,3 A	28,0 Bc
RC60	3,31 $\pm$ 0,1	4,47 $\pm$ 0,1 Aa	13,98 $\pm$ 0,05 Aa	6,32 $\pm$ 0,1 Aa	63,1 $\pm$ 0,2 Aa	90,0 $\pm$ 2,3 Aa	43,4 $\pm$ 4,1 Aa	12,7 $\pm$ 0,3 Aa	79,4 Aa
RC80	3,07 $\pm$ 0,1	4,39 $\pm$ 0,1 Aa	13,97 $\pm$ 0,35 Aa	5,79 $\pm$ 0,1 Ac	64,3 $\pm$ 1,1 Aa	88,2 $\pm$ 2,0 Aa	40,4 $\pm$ 1,5 Aa	12,9 $\pm$ 1,2 Aa	78,5 Aa

Genótipos	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	DPPH (IR50 µg/mL)	ABTS (IR50 µg/mL)	TPC (g CAE/100g)	Pontuação sensorial
RC100	3,45 ± 0,1	4,37 ± 0,1 Aa	13,39 ± 0,64 Aa	6,11 ± 0,1 Ab	64,5 ± 0,2 Aa	93,1 ± 3,4 Aa	51,4 ± 1,3 Aa	11,8 ± 0,1 Aa	79,0 Aa
RCAT60	3,28 ± 0,1	4,41 ± 0,1 Aa	14,42 ± 0,39 Aa	12,1 ± 0,1 Ab	59,2 ± 0,6 Aa	117 ± 4,8 Aa	68,8 ± 3,1 Ab	9,27 ± 0,4 Aa	76,2 Aa
RCAT80	4,01 ± 0,0	4,20 ± 0,2 Aa	13,34 ± 0,20 Aa	12,8 ± 0,2 Ab	59,3 ± 0,3 Aa	132 ± 11 Aa	77,0 ± 0,2 Aa	9,05 ± 0,0 Aa	80,9 Aa
RCAT100	3,91 ± 0,1	4,28 ± 0,1 Aa	14,54 ± 0,43 Aa	13,6 ± 0,2 Aa	56,2 ± 0,5 Aa	113 ± 3,2 Aa	61,1 ± 2,4 Ac	10,6 ± 0,3 Aa	80,2 Aa

Fonte: a autora (2022).

TABELA 2 — COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE CAFÉ (MG/KG). GRÃOS VERDES: DIAMANTE VERDE (GD); JEQUITIBÁ VERDE (GJ); CENTENÁRIA VERDE (GC); CATUAÍ VERDE (GCAT). GRÃOS TORRADOS: DIAMANTE TORRADO (RD), JEQUITIBÁ TORRADO (RJ), CENTENÁRIA TORRADO (RC), CATUAÍ TORRADO (RCAT). RIP_60: 60% DE GRÃOS MADUROS, RIP_80: 80% DE GRÃOS MADUROS, RIP_100: 100% DE GRÃOS MADUROS. MÉDIAS SEGUIDAS DA MESMA LETRA EM MAÍUSCULA NA COLUNA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE DE KRUSKAL-WALLIS, SEGUIDO DE POST HOC DE CONOVER-IMAN ($P \geq 0,05$), E COMPARAM OS MESMOS NÍVEIS DE MATURAÇÃO, ANTES E APÓS A TORRA. MÉDIAS SEGUIDAS DA MESMA LETRA EM MINÚSCULA NA COLUNA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELOS MESMOS TESTES E COMPARAM OS NÍVEIS DE MATURAÇÃO NO MESMO GENÓTIPO.

Genótipos	B	Na	Mg	Al	P	S	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
<i>Grãos verdes</i>															
GD60	4,9±0,6 Aa	14,7±0,8 Aa	1.834±87 Aa	1,8±0,6 Aa	948±141 Ac	1.597±185 Aa	13.759±347 Aa	1.097±69 Aa	0,3±0,0 Aa	37,1±2,0 Aa	39,4±4,5 Aa	0,3±0,0 Aa	3,99±0,3 Ac	11,7±0,6 Aa	6,2±0,4 Aa
GD80	3,2±1,0 Aa	20,4±1,3 Aa	1.891±110 Aa	2,8±0,4 Aa	1.148±182 Ab	1.811±313 Aa	12.560±572 Aa	1.027±76 Aa	0,4±0,1 Aa	37,9±2,6 Aa	44,2±3,3 Aa	0,2±0,0 Aa	8,90±0,8 Aa	12,9±0,8 Aa	6,5±0,5 Aa
GD100	5,4±0,8 Aa	14,6±1,1 Aa	1.657±63 Aa	2,7±0,5 Aa	1.292±159 Aa	1.643±263 Aa	12.593±245 Aa	971±39 Aa	0,4±0,1 Aa	33,5±3,0 Aa	41,1±2,6 Aa	0,2±0,0 Aa	6,94±0,4 Ab	11,5±0,4 Aa	4,7±0,2 Aa
GJ60	6,3±0,8 Aa	13,7±0,5 Aa	1.761±91 Aa	1,9±0,2 Aa	1.262±157 Aa	1.603±111 Aa	13.214±586 Aa	1.096±34 Aa	0,29±0,0 Ac	36,3±1,4 Ab	56,1±1,7 Aa	0,1±0,0 Aa	4,91±0,1 Aa	12,5±0,2 Aa	13,6±0,4 Aa
GJ80	6,9±0,6 Aa	7,88±0,7 Ac	1.893±143 Aa	1,1±0,3 Aa	1.285±229 Aa	1.417±115 Aa	13.985±893 Aa	1.110±84 Aa	0,34±0,0 Ab	41,6±2,6 Aa	33,9±1,6 Ab	0,1±0,0 Aa	3,55±0,2 Ab	11,8±0,5 Ab	4,25±0,2 Ac
GJ100	8,4±0,4 Aa	11,2±0,5 Ab	1.794±98 Aa	2,0±0,2 Aa	1.253±88 Aa	1.537±217 Aa	12.311±507 Aa	899±64 Aa	0,40±0,0 Aa	25,8±5,8 Ac	47,5±2,6 Aa	0,1±0,0 Aa	3,25±0,1 Ac	12,9±0,6 Aa	4,79±0,2 Ab
GC60	4,1±0,2 Aa	11,8±0,7 Aa	1.264±103 Aa	1,5±0,3 Aa	1.121±52 Ab	1.287±128 Aa	9.299±538 Ab	831±81 Ab	0,4±0,2 Aa	23,0±1,6 Ab	56,6±1,9 Aa	0,60±0,0 Ab	3,07±0,0 Ac	10,3±0,4 Aa	4,37±0,2 Ac
GC80	5,4±0,4 Aa	26,6±1,6 Aa	1.437±74 Aa	2,6±0,4 Aa	1.248±63 Aa	1.477±231 Aa	11.047±623 Aa	1.406±80 Aa	0,3±0,1 Aa	24,9±2,5 Aa	50,9±3,8 Aa	0,67±0,0 Aa	4,61±0,2 Aa	14,2±0,3 Ac	5,92±0,2 Ab
GC100	LOQ	25,4±0,8 Aa	1.024±67 Ab	1,3±0,3 Aa	907±63 Ac	1.300±272 Aa	7.441±364 Ac	646±40 Ac	0,2±0,0 Aa	18,7±1,1 Ac	20,0±2,3 Aa	0,69±0,0 Aa	4,00±0,1 Ab	12,6±0,2 Ab	7,57±0,9 Aa
GCAT60	3,3±0,5 Aa	10,2±0,8 Aa	2.033±81 Aa	3,7±0,2 Aa	1.355±95 Aa	1.528±129 Aa	13.366±240 Aa	1.179±51 Aa	1,42±0,2 Aa	26,7±1,1 Aa	97,4±5,6 Aa	0,12±0,0 Ab	2,9±0,2 Aa	14,7±0,4 A	7,21±0,3 Ab
GCAT80	5,5±1,3 Aa	4,67±0,3 Ac	1.464±92 Aa	2,6±0,4 Aa	969±79 Aa	1.510±198 Aa	10.273±393 Aa	837±58 Aa	0,53±0,1 Ac	30,1±2,1 Aa	41,4±3,5 Ab	0,11±0,0 Ac	2,5±0,2 Aa	9,6±0,5 A	13,2±0,6 Aa
GCAT100	3,7±0,7 Aa	6,66±0,6 Ab	1.649±63 Aa	6,9±0,6 Aa	1.260±76 Aa	1.411±157 Aa	12.844±601 Aa	1.083±6,0 Aa	0,68±0,1 Ab	32,5±2,5 Aa	45,9±5,4 Ab	0,13±0,0 Aa	2,8±0,2 Aa	11,9±0,5 A	6,50±0,4 Ac
<i>Roasted coffee</i>															
RD60	6,95±0,5 Aa	18,2±1,1 Aa	1.240±67 Aa	1,7±0,3 Aa	910±63 Aa	1.624±169 Aa	12.000±364 Ab	1.124±40 Ab	0,2±0,0 Aa	18,2±1,1 Aa	41,8±1,8 Aa	0,3±0,0 Aa	1,22±0,1 Aa	14,7±0,1 Aa	6,6±0,2 Aa
RD80	6,19±0,8 Ab	16,0±0,9 Aa	1.829±89 Aa	1,1±0,1 Aa	1.333±105 Aa	1.580±67 Aa	13.342±346 Aa	1.201±30 Aa	0,2±0,0 Aa	35,2±1,7 Aa	37,9±1,5 Aa	0,3±0,0 Aa	1,09±0,0 Ab	13,3±0,2 Aa	6,2±0,3 Aa
RD100	4,21±0,6 Ac	16,2±1,2 Aa	1.502±93 Aa	1,5±0,2 Aa	1.049±111 Aa	1.806±120 Aa	10.764±558 Ac	950±15 Ac	0,2±0,0 Aa	58,9±2,6 Aa	38,3±1,5 Aa	0,3±0,0 Aa	1,02±0,0 Ac	12,7±0,6 Aa	7,1±0,4 Aa
RJ60	3,69±0,5 Ac	12,7±0,5 Aa	1.914±71 Aa	0,9±0,2 Aa	1.328±68 Aa	1.486±120 Aa	10.452±616 Ab	1.132±47 Aa	0,1±0,0 Aa	38,4±2,5 Ab	33,4±1,8 Aa	0,58±0,0 Aa	1,00±0,0 Ab	11,0±0,3 Aa	4,45±0,1 Ac
RJ80	9,48±1,1 Aa	12,3±1,2 Aa	1.731±66 Aa	1,1±0,2 Aa	1.338±122 Aa	1.576±267 Aa	9.763±485 Ac	928±52 Aa	0,2±0,0 Aa	44,4±1,8 Aa	29,9±3,1 Ab	0,20±0,0 Ab	1,54±0,1 Aa	13,2±0,9 Aa	5,71±0,4 Ab
RJ100	7,66±0,8 Ab	10,8±0,5 Aa	1.949±73 Aa	1,5±0,2 Aa	1.294±121 Aa	1.604±185 Aa	11.484±707 Aa	959±56 Aa	0,3±0,0 Aa	26,0±2,4 Ac	39,7±3,1 Aa	0,14±0,0 Ac	1,03±0,1 Ab	13,1±0,5 Aa	6,43±0,2 Aa

Genótipos	B	Na	Mg	Al	P	S	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
RC60	4,77±1,1 Ac	11,0±0,3 Aa	1.836±76 Aa	3,2±0,8 Aa	1.368±77 Aa	1.339±337 Aa	13.359±684 Aa	1.063±82 Aa	0,1±0,0 Aa	27,2±2,1 Aa	36,0±4,2 Aa	0,15±0,1 Ac	1,3±0,1 Aa	12,7±0,7 Aa	6,0±0,6Aa
RC80	8,83±1,7 Aa	12,0±1,5 Aa	1.760±91 Aa	2,7±0,5 Aa	1.262±157 Aa	1.317±162 Aa	13.214±586 Aa	1.096±34 Aa	0,1±0,0 Aa	26,3±1,4 Aa	32,8±3,4 Aa	0,78±0,0 Aa	1,0±0,1 Aa	13,2±0,3 Aa	5,0±0,5 Aa
RC100	6,66±0,4 Ab	9,7±0,4 Aa	1.720±82 Aa	0,8±0,2 Aa	1.171±72 Aa	1.772±130 Aa	13.574±727 Aa	1.075±39 Aa	0,2±0,0 Aa	37,9±2,2 Aa	31,3±1,0 Aa	0,58±0,0 Ab	0,7±0,0 Aa	10,7±0,4 Aa	3,9±0,2 Aa
RCAT60	2,9±0,1 Aa	6,0±0,4 Aa	1.478±106 Aa	0,7±0,3 Aa	1.122±62 Aa	1.371±128 Aa	10.044±623 Aa	791±45 Aa	0,1±0,0 Aa	36,5±0,8 Ab	24,7±0,9 Aa	0,1±0,0 Aa	0,4±0,0 Aa	11,1±0,4 Aa	4,7±0,2 Aa
RCAT80	2,9±0,7 Aa	5,5±0,2 Aa	1.357±27 Aa	1,2±0,1 Aa	937±101 Aa	1.356±101 Aa	10.735±226 Aa	883±41 Aa	0,1±0,0 Aa	55,7±1,3 Aa	23,1±1,1 Aa	0,1±0,0 Aa	0,5±0,0 Aa	9,97±0,3 Ab	5,2±0,2 Aa
RCAT100	3,4±0,5 Aa	6,3±0,5 Aa	1.745±101 Aa	1,1±0,3 Aa	1.301±104 Aa	1.568±189 Aa	8.315±635 Ab	664±82 Ab	0,2±0,0 Aa	28,7±1,5 Ac	27,5±1,6 Aa	0,1±0,0 Aa	0,4±0,0Aa	11,7±0,4 Aa	5,2±0,2 Aa

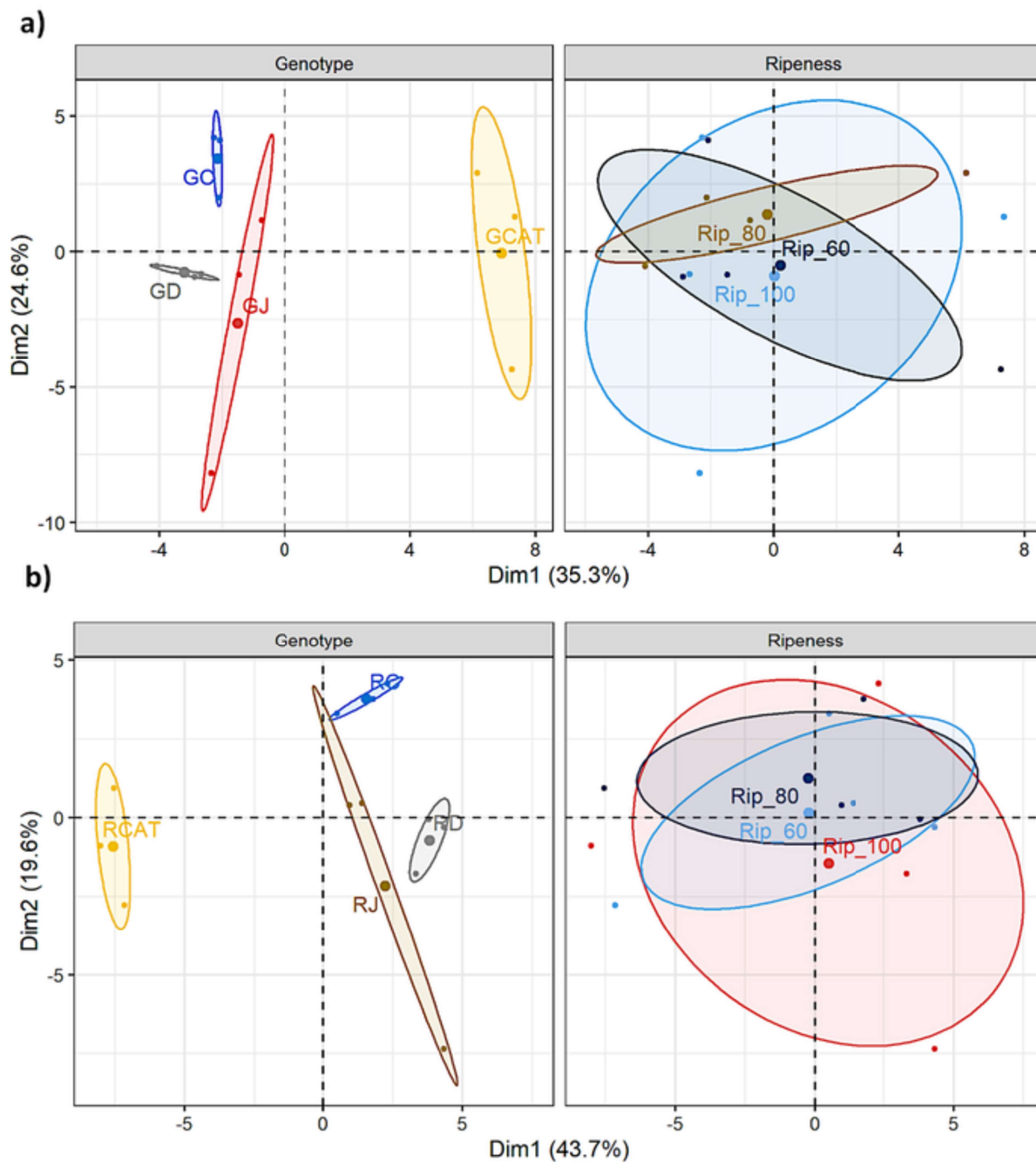
Fonte: a autora (2022)..

TABELA 3 — CONTEÚDO DE CAFEÍNA, TRIGONELINA E ÁCIDOS CLOROGÊNICOS DAS AMOSTRAS DE CAFÉ (G/100G). GRÃOS VERDES: DIAMANTE VERDE (GD); JEQUITIBÁ VERDE (GJ); CENTENÁRIA VERDE (GC); CATUAÍ VERDE (GCAT). GRÃOS TORRADOS: DIAMANTE TORRADO (RD), JEQUITIBÁ TORRADO (RJ), CENTENÁRIA TORRADO (RC), CATUAÍ TORRADO (RCAT). RIP_60: 60% DE GRÃOS MADUROS, RIP_80: 80% DE GRÃOS MADUROS, RIP_100: 100% DE GRÃOS MADUROS.

Genótipos	Cafeína	Trigonelina	3-CQA	3,4-diCQA	3,5-diCQA	4-CQA	4,5-di-CQA	5-CQA	CQA Total
<i>Grãos verdes</i>									
GD60	2,10±0,00 Aa	0,63±0,00 Ab	4,63±0,09 Aa	0,58±0,01 Aa	0,38±0,01 Aa	0,98±0,02 Aa	0,27±0,00 Aa	1,27±0,04 Aa	8,11±0,16 Aa
GD80	2,14±0,03 Ba	0,64±0,00 Aa	4,62±0,01 Aa	0,59±0,01 Aa	0,39±0,00 Aa	0,99±0,01 Aa	0,26±0,00 Ab	1,28±0,04 Aa	8,12±0,06 Aa
GD100	2,10±0,01 Ba	0,61±0,01 Ac	4,29±0,01 Aa	0,54±0,00 Aa	0,36±0,00 Ab	0,98±0,00 Aa	0,22±0,00 Ac	1,35±0,00 Aa	7,73±0,02 Aa
GJ60	2,31±0,01 Aa	0,73±0,01 Aa	4,56±0,10 Aa	0,42±0,01 Aa	0,41±0,00 Aa	0,84±0,02 Aa	0,30±0,17 Aa	1,12±0,04 Aa	7,65±0,34 Aa
GJ80	2,14±0,03 Ba	0,72±0,01 Ab	4,48±0,01 Aa	0,39±0,01 Aa	0,39±0,00 Ac	0,82±0,00 Aa	0,32±0,01 Ab	1,13±0,02 Aa	7,53±0,04 Aa
GJ100	2,14±0,03 Ba	0,66±0,01 Ac	4,62±0,00 Aa	0,41±0,00 Aa	0,40±0,00 Ab	0,83±0,00 Aa	0,32±0,00 Ab	1,14±0,02 Aa	7,72±0,03 Aa
GC60	2,04±0,03 Ab	0,64±0,01 Ab	5,13±0,01 Aa	0,45±0,01 Aa	0,31±0,00 Ac	0,90±0,00 Ac	0,30±0,00 Ab	1,09±0,02 Aa	8,15±0,05 Aa
GC80	2,15±0,02 Ba	0,67±0,01 Aa	5,10±0,00 Ab	0,46±0,01 Aa	0,34±0,00 Aa	0,91±0,01 Ab	0,34±0,01 Aa	1,09±0,03 Aa	8,24±0,06 Aa
GC100	2,07±0,03 Bb	0,62±0,01 Ab	5,14±0,00 Aa	0,47±0,01 Aa	0,32±0,00 Ab	0,92±0,00 Aa	0,30±0,00 Ab	1,07±0,02 Aa	8,23±0,03 Aa
GCAT60	1,31±0,01 Ab	0,92±0,01 Aa	4,53±0,03 Ab	0,22±0,01 Ab	0,55±0,00 Aa	0,22±0,01 Aa	0,21±0,01 Aa	0,30±0,04 Aa	6,03±0,11 Ab
GCAT80	1,29±0,01 Bc	0,85±0,00 Aa	4,90±0,09 Aa	0,19±0,00 Ac	0,45±0,00 Ac	0,22±0,01 Aa	0,22±0,03 Aa	0,29±0,02 Aa	6,28±0,15 Aa
GCAT100	1,34±0,00 Ba	0,93±0,01 Aa	4,28±0,02 Ac	0,24±0,00 Aa	0,53±0,00 Ab	0,22±0,00 Aa	0,19±0,01 Aa	0,29±0,02 Aa	5,74±0,06 Ac
<i>Grãos torrados</i>									
RD60	2,20±0,00 Aa	0,60±0,01 Ba	2,54±0,01 Ba	0,23±0,00 Ba	0,15±0,00 Ba	0,87±0,01 Aa	0,13±0,00 Ba	1,18±0,05 Aa	5,05±0,07 Ba
RD80	2,21±0,01 Aa	0,59±0,01 Ba	2,47±0,01 Bb	0,22±0,00 Ba	0,14±0,00 Ba	0,90±0,08 Aa	0,12±0,01 Ba	1,07±0,09 Aa	4,92±0,19 Ba
RD100	2,24±0,01 Aa	0,59±0,00 Ba	2,42±0,00 Bc	0,23±0,00 Ba	0,14±0,00 Ba	0,83±0,00 Aa	0,13±0,00 Ba	1,12±0,04 Aa	4,87±0,05 Ba
RJ60	2,41±0,00 Aa	0,70±0,02 Bb	2,46±0,00 Bb	0,18±0,00 Ba	0,13±0,00 Ba	0,76±0,00 Ab	0,13±0,02 Ba	1,03±0,02 Aa	4,68±0,05 Bb
RJ80	2,30±0,00 Ac	0,73±0,00 Ba	2,35±0,01 Bc	0,17±0,01 Ba	0,12±0,00 Ba	0,73±0,00 Ac	0,11±0,00 Ba	1,01±0,04 Aa	4,48±0,07 Bc
RJ100	2,33±0,00 Ab	0,63±0,00 Bc	2,52±0,09 Ba	0,17±0,00 Ba	0,13±0,00 Ba	0,79±0,02 Aa	0,12±0,07 Ba	1,05±0,02 Aa	4,79±0,20 Ba
RC60	1,99±0,00 Ac	0,57±0,00 Bc	2,39±0,01 Ba	0,15±0,00 Bc	0,11±0,00 Ba	0,78±0,00 Ac	0,09±0,00 Bc	1,02±0,04 Aa	4,54±0,06 Ba
RC80	2,30±0,01 Aa	0,64±0,01 Ba	2,40±0,11 Ba	0,16±0,01 Bb	0,12±0,00 Ba	0,80±0,00 Ab	0,10±0,00 Bb	1,05±0,03 Aa	4,63±0,15 Ba
RC100	2,23±0,00 Ab	0,59±0,00 Bb	2,73±0,00 Ba	0,19±0,00 Ba	0,14±0,00 Ba	0,90±0,00 Aa	0,13±0,00 Ba	1,16±0,03 Aa	5,26±0,05 Ba
RCAT60	1,34±0,00 Ab	0,84±0,00 Bb	1,62±0,07 Ba	0,11±0,00 Ba	0,08±0,00 Bc	0,42±0,05 Ab	0,08±0,00 Ba	0,82±0,05 Aa	3,27±0,18 Ba
RCAT80	1,31±0,00 Ac	0,82±0,00 Bc	1,81±0,00 Ba	0,11±0,00 Ba	0,10±0,00 Ba	0,54±0,00 Aa	0,09±0,00 Ba	0,80±0,01 Aa	3,59±0,01 Ba
RCAT100	1,44±0,00 Aa	0,88±0,00 Ba	1,55±0,07 Ba	0,10±0,00 Bb	0,09±0,00 Bb	0,45±0,01 Aab	0,08±0,00 Ba	0,80±0,06 Aa	3,19±0,15 Ba

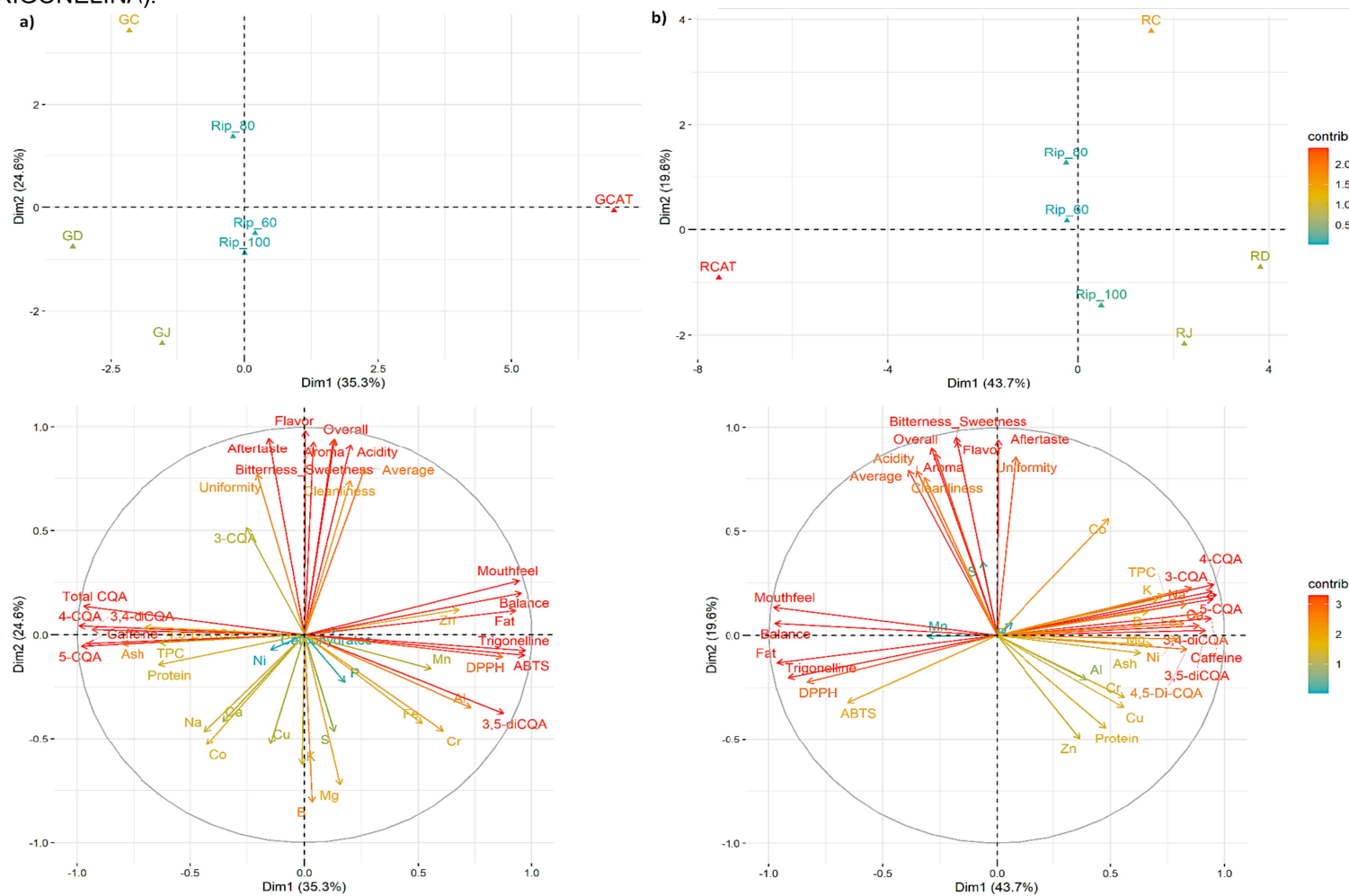
Fonte: a autora (2022)..

FIGURA 2 — ANÁLISE FATORIAL DE DADOS MISTOS (FAMD), A) GRÃOS VERDES, GD: DIAMANTE VERDE; GJ: JEQUITIBÁ VERDE; GC: CENTENÁRIA VERDE; GCAT: CATUAÍ VERDE, B) GRÃOS TORRADOS, RD: DIAMANTE TORRADO, RJ: JEQUITIBÁ TORRADO, RC: CENTENÁRIA TORRADO, RCAT: CATUAÍ



Fonte: a autora (2022)..

FIGURA 3 - FAMD MOSTRANDO A POSIÇÃO DAS VARIÁVEIS PREDITORAS (GENÓTIPOS E MATURAÇÕES) ACIMA, E AS VARIÁVEIS RESPOSTA (COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, ANÁLISE ELEMENTAR, ÁCIDOS CLOROGÊNICOS, CAFEÍNA E TRIGONELINA).



Fonte: a autora (2022)

5 CAPÍTULO 3 – PERFIL PROTEÔMICO E QUALIDADE DA BEBIDA CAFÉ

Os sistemas agrícolas sempre enfrentaram muitos desafios, e precisam de investimento tecnológico para superá-los. A combinação de genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica permite uma compreensão mais profunda dos mecanismos subjacentes à complexa arquitetura de muitas características fenotípicas de relevância agrícola. (VARSHNEY *et al.*, 2020; SCOSSA; ALSEEKH; FERNIE, 2021). A aplicação dessas ferramentas na área de ciência de alimentos se tornou um novo campo de pesquisa, “foodomic” (Cifuentes, 2009; Rodríguez-Carrasco, 2022).

A proteômica “label-free” é um método em espectrometria de massas (MS) que determina a quantidade relativa de proteínas em duas ou mais amostras biológicas, mas, diferente de outros métodos quantitativos, não usa um isótopo estável que liga quimicamente e rotula a proteína (Chen *et al.*, 2018). Várias áreas do conhecimento, como a da saúde (Manna *et al.*, 2023), ambiental (Gajahin Gamage *et al.*, 2022) e agronômica (Kaur *et al.*, 2021) utilizam esse método. Ela também é utilizada na área de ciência de alimentos, para o controle de qualidade de vinho e cerveja (Liu *et al.*, 2022), na investigação de alimentos de origem aquática (“Blue foods”) e na descoberta de marcadores da qualidade, autenticidade e segurança de alimentos (Afzaal *et al.*, 2022).

Na cafeicultura essas ferramentas estão sendo utilizadas para pesquisa da resistência a estresse hídrico (Stavrinides *et al.*, 2020), da acumulação de substâncias no grão durante a maturação (Cheng; Furtado; Henry, 2018), do efeito da secagem do grão no pós-colheita (Livramento *et al.*, 2017) etc, mas ainda são pouco exploradas para a investigação da qualidade da bebida.

No artigo 3 a proteômica “label-free” foi utilizada para comparar o perfil proteômico do endosperma de dois genótipos de médias sensoriais distintas, uma maior e outra menor, em dois momentos da maturação do fruto, verde expandido e cereja (100% maduro).

5.1 ARTIGO 3: A QUALIDADE SENSORIAL DA BEBIDA CAFÉ DE COFFEA CANEPHORA VAR CONILON É REFLETIDA NA EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE SUAS PROTEÍNAS.

A qualidade sensorial da bebida café de *Coffea canephora* cv Conilon é refletida na expressão diferencial de suas proteínas.

Daniele Alves Marinho^{a,*}, Felipe Astolpho Almeida^b, Vitor Batista Pinto^b, Karla Lirio Soares^c, Maria Amélia Gava Ferrão^d, Vanildo Silveira^b and Rodrigo Scherer^{c,**}

^aFederal Institute of Education, Science and Technology of Espírito Santo (Ifes)

^bIntegrative Biology Laboratory. State University of Northern Rio de Janeiro Darcy Ribeiro (UENF)

^cPharmaceutical Sciences Graduate Program, Universidade Vila Velha (UVV)

^dBrazilian Agricultural Research Company - Coffee section (Embrapa Coffee)/Espírito Santo Research, Technical Assistance and Rural Extension Institute (Incaper)

*Email: dalmabio@gmail.com

**Email: rodrigo.scherer@uvv.br

RESUMO

Há muito tempo pesquisadores buscam desvendar as moléculas responsáveis pela qualidade da bebida café, uma das bebidas mais consumidas do mundo, esse esforço se torna mais urgente com a crise climática, que colabora para a diminuição dessa qualidade. Neste trabalho revelamos o perfil proteômico de dois genótipos de café conilon, um com média sensorial superior e outro com média inferior, Diamante 105 e Jequitibá 205, respectivamente. Os frutos foram colhidos em dois graus de maturação, verde expandido e cereja (100% maduro). As proteínas “transcetolase”, “frutose bisfosfato aldolase” e a “proteína relacionada à dessecação semelhante à PCC13-62”, foram UP acumuladas em Diamante 105 (genótipo 5), e as proteínas “homólogo da proteína 48 do ciclo de divisão celular” e “tubulinas de cadeia beta” no Jequitibá 205 (genótipo 14). Os resultados apontam para uma menor eficiência no acúmulo de amido e sacarose, bem como uma menor resistência ao estresse oxidativo no genótipo de média sensorial inferior, com

possível participação da “proteína ribossômica 60S L13a-4”. A busca de uma qualidade sensorial ideal é intrínseca a cada genótipo.

Palavras-chave: café, *Coffea*, quality, proteômica, frutose bisfosfato aldolase, proteína ribossômica 60S L13a-4.

5.1.1 INTRODUÇÃO

O café é uma tradicional bebida consumida em todo o mundo (Lim, Zwicker, and Wang 2019). O seu consumo proporciona muitos benefícios à saúde, como um menor índice de mortalidade geral e menor mortalidade específica por doenças cardiovasculares, infecciosas, do trato digestório (Nohara-Shitama et al. 2019; Yamakawa et al. 2019), câncer (Grosso et al. 2016) e parkinson (Hernán et al. 2002). O comércio do café é importante para a economia dos países em desenvolvimento, por isso, programas de melhoramento do café em todo o mundo investem na pesquisa com cafeeiros, sendo as duas espécies de maior valor comercial *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (Thierry Leroy et al. 2011; Ferrão et al. 2019).

Até o final da década de 80, parâmetros como rendimento e resistência a doenças foram prioridade para os programas de melhoramento, enquanto a qualidade da bebida de *C. canephora* ficou em segundo plano (Charrier and Berthaud 1988). Após essa década a qualidade sensorial do café ganhou a atenção dos melhoristas, mas eles enfrentam grandes desafios, como a origem multifatorial dessa característica (Kleinwächter and Selmar 2010; López-García et al. 2016; Alves et al. 2018; Yadessa et al. 2020), a previsão da diminuição de até 60% da área própria para essa cultura devido às mudanças climáticas, especialmente no Brasil e no Vietnã, dois grandes produtores (Bunn et al. 2015; Bunn, Castro, and Lundy 2018; Gomes et al. 2020; Harvey et al. 2021), bem como o risco de extinção de cerca de 60% das espécies selvagens de café, importantes para nossos bancos de germoplasma desse gênero vegetal (Davis et al. 2019).

Existem poucos trabalhos que abordam a qualidade da bebida café na perspectiva do melhoramento genético, embora existam a respeito de outras características agrônômicas, como a produtividade e a resistência a pragas. No

entanto, alguns marcadores moleculares relacionados à qualidade sensorial já foram descobertos, ou estão sendo explorados, como polimorfismos de nucleotídeo único (SNP's) relacionados ao teor de cafeína e trigonelina (Spinoso-Castillo et al. 2022; Santoso, Sisharmini, and Syafaruddin 2022).

Entre os carboidratos, a sacarose é considerada o precursor mais importante do sabor e aroma do café (Clifford and Willson 1985). Em *C. canephora*, a sacarose sintase (SuSy) é codificada por pelo menos dois genes, sendo um deles *CcSUS1*, e *CaSUS1* em *C. arabica* (T. Leroy et al. 2005). A herança dessa característica possui aditividade genética e é uma herança do tipo poligênica com genes independentes e um alto nível de heterozigosidade parental em *Coffea liberica* (Dewevrei) e *Coffea pseudozanguebariae* (Ky et al. 2000). Outros genes relacionados ao metabolismo dos carboidratos como o da sacarose fosfato sintase (SPS), sacarose fosfato fosfatase (SP), invertases (Inv), e os da superfamília de celulose sintase (CesA) (Privat et al. 2008; Mondego et al. 2011) também foram relacionados à qualidade da bebida.

Os lipídios também são uma importante fonte de sabor e aroma nos alimentos, e carecem de mais estudos sobre a sua regulação gênica em cafeeiros. O triacilglicerol (TAG) é o principal carreador de aroma no grão de café torrado. O teor dessa substância recebe a influência da luminosidade sobre o cafeeiro (Oliveira et al. 2021; Geromel et al. 2008), e sua expressão envolve os genes da acil-ACP tioesterase tipo B (*FATb*) (Joët et al. 2009), gene endógeno de $\Delta 12$ -dessaturase (*FAD2*) e genes da N-acetiltransferase de lipídios (Sant'Ana et al. 2018).

As proteínas e aminoácidos livres são necessários para a geração da cor e do aroma do café. A principal proteína de armazenamento (SSPs) no endosperma de sementes de café foi identificada como globulina 11S, da família Cupin, e representa 45% da proteína total no endosperma (Castro and Marraccini 2006). Além disso, há outras proteínas de armazenamento potenciais, a 7S-like, SDP1, SDP1-like, glutelin A2, A3 e Patatin 6 (Cheng, Furtado, and Henry 2018). As proteinases também podem alterar o perfil proteico do grão alterando consequentemente sua qualidade (Abreu et al. 2012).

As substâncias do metabolismo secundário do cafeeiro influenciam na acidez e amargor da bebida, e os compostos mais estudados desse metabolismo são os alcalóides (metilxantinas) e compostos fenólicos (ácidos clorogênicos) (Lemos et al. 2020). Dentre as metilxantinas a mais conhecida e utilizada é a cafeína, cuja via

biossintética tem sido intensamente estudada nas últimas décadas. Ela é sucessivamente sintetizada a partir de nucleotídeos de adenina por meio de múltiplas etapas catalisadas por várias enzimas (Mizuno et al. 2003). A série final de etapas envolve a metilação da xantosina pela N-metiltransferase, produzindo 7-metilxantosina, cujo resíduo de ribose é removido pela 7-metilxantosina nucleosidase. A 7-metilxantina (7mX) resultante é metilada na posição 3-N- por N-metiltransferase, produzindo 3,7-dimetilxantina (teobromina), que é novamente metilada na posição 1-N para dar 1, 3, 7-trimetilxantina (cafeína) (Ogawa et al. 2001). Essas enzimas são codificadas pelos genes *XMT*, *MXMT* e *DXMT* (Uefuji et al. 2003).

A biossíntese de ácidos clorogênicos parece ser controlada pela atividade da família multigênica fenilpropanóide em plantas, e envolve os genes da fenilalanina amônia liase (PAL), C3'H, CCoAMT, hidroxicinamoil-CoA quinato hidroxicinamoil transferase (HQT) e da 4-coumarato CoA ligase (4CL) (Koshiro et al. 2007; Lepelley et al. 2007, 2012; Cheng, Furtado, and Henry 2018)

Neste trabalho, exploramos o perfil diferencial das proteínas acumuladas do endosperma de dois genótipos de café conilon (*C. canephora*) com médias sensoriais distintas, em dois estágios de maturação, verde e cereja.

5.1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.2.1 AMOSTRAS DE CAFÉ

Foram utilizados 10 genótipos de *Coffea canephora* variedade Conilon: 101, 102, 105, 108, 201, 205, 306, 307, 83 e 31. Esses genótipos foram indicados pelos melhoristas do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper) pela alta qualidade da bebida que eles produzem. Os genótipos foram cultivados na Fazenda Experimental de Venda Nova do Imigrante (41°11'24.0"W, 20°23'01.1"S), no estado do Espírito Santo, Brasil, seguindo um delineamento de blocos casualizados, com 4 repetições, 8 plantas por parcela, espaçamento de 3,0 x 1,0 m e 3 hastes por planta.

Os frutos para a análise proteômica foram colhidas em dois estágios de maturação, verde expandido e cereja, e mantidos congelados a -20 °C até a análise. Os frutos colhidos para a análise sensorial passaram por processamento natural em terreiro suspenso. A umidade dos grãos foi normalizada para aproximadamente 12%, as amostras foram codificadas e passadas na peneira 16 para padronização dos cafés, em seguida foram catadas para retirada dos defeitos, sendo pesado 100 g para realização das avaliações sensoriais. Somente os genótipos com a maior e menor média sensorial tiveram seus grãos congelados submetidos à análise proteômica, Diamante 105 (classificado no Incaper como genótipo 5) e Jequitibá 205 (classificado no Incaper como genótipo 14), respectivamente.

5.1.2.2 ANÁLISE SENSORIAL

As avaliações sensoriais foram realizadas por quatro profissionais credenciados, para a avaliação de cafés especiais (Q-Graders), seguindo a metodologia da Specialty Coffee Association – SCA (SCA, 2015). A torra do café foi realizada em torradores de amostras modelo Probat TP2- Leogap, de acordo com o protocolo de análise sensorial da SCA, cuja coloração correspondeu a 58 pontos da escala Agtron para o grão inteiro e 63 pontos para o grão moído, com tolerância de ± 1 ponto. Foram torrados 100 g de grãos de cada amostra, sendo a torração realizada dentro do prazo máximo de 24 horas antes da degustação e o ponto de torra determinado visualmente, utilizando-se um sistema de classificação de cor por meio de discos padronizados (SCA/Agtron Roast Color Classification System). Durante a torração, fatores que afetam o ponto de torra, como temperatura e tempo de torra, foram monitorados por termômetros e cronômetros, respectivamente, respeitando-se a faixa de tempo entre 8 minutos e 12 minutos.

Para realização da moagem, foi realizada a limpeza do equipamento e trituração de um pequeno volume da amostra a ser avaliada, para que não ocorresse contaminação com resíduos de outras amostras moídas anteriormente. O moinho (modelo Carmomaq) foi regulado para que o tamanho das partículas moídas de café torrado passasse 70% do volume em peneira de furos de 20 meshs. Cada lote de café foi degustado com 5 xícaras, sendo adotada a concentração ótima de 8,25 g de café moído em 150 ml de água, em conformidade com o ponto médio do gráfico de equilíbrio, ótimo para obtenção do Golden Cup (SCA, 2015).

O processo de análise sensorial dos cafés foi realizado de acordo com a metodologia SCA, e os atributos fragrância, sabor, retrogosto, acidez, doçura, sensação na boca, uniformidade, equilíbrio, limpeza, conjunto e nota final foram determinados.

5.1.2.3 ANÁLISE PROTEÔMICA

Toda a análise proteômica foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (LBT-UENF).

5.1.2.3.1 *Extração das proteínas*

O endosperma de três réplicas biológicas de cada genótipo foi separado com o auxílio de um bisturi, macerado com nitrogênio líquido até o máximo de pulverização possível, e três réplicas biológicas (300 mg de matéria fresca - FM cada) foram acondicionados em microtubos de 1,5 mL. As proteínas foram extraídas pelo método do ácido tricloroacético (TCA)/acetona (Damerval et al. 1986), com modificações. As amostras foram ressuspensas em 1 mL de tampão de extração a frio contendo 10% (p/v) TCA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) em acetona com 20 mM de ditiotreitol (DTT) (GE Healthcare) e agitadas no vórtex por 5 min a 8 °C. A mistura foi mantida a – 20 °C por 1 h e depois centrifugada a 16.000g por 30 min a 4 °C. Os pellets resultantes foram lavados três vezes com acetona fria e DTT 20 mM, e centrifugados por 5 min/lavagem. Os pellets foram secos ao ar e ressuspensos em tampão contendo ureia 7 M, tiourea 2 M, Triton X-100 2%, DTT 1% e fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) 1 mM (Sigma-Aldrich), agitados em vórtex por 30 min a 8 °C e centrifugados por 20 min a 16.000 g. Os sobrenadantes foram coletados e as concentrações de proteína foram determinadas usando um 2-D Quant Kit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA).

5.1.2.3.2 *Digestão das proteínas*

Alíquotas de 100 µg de proteínas/amostra foram utilizadas para digestão de proteínas com tripsina. Primeiro, as proteínas foram precipitadas usando um protocolo de metanol/clorofórmio para remoção de resquícios de detergente e

compostos fenólicos (Nanjo et al. 2012). A digestão tríptica das proteínas (enzima:proteína 1:100, V5111, Promega, Madison, EUA) foi subsequentemente realizada usando o método modificado de preparação de amostra assistida por filtro (FASP) conforme descrito por (Pinto et al. 2021). Os peptídeos resultantes foram quantificados de acordo com o método de proteína e peptídeo A_{205nm} usando um espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA).

5.1.2.3.3 *Análise de espectrometria de massa*

A espectrometria de massas foi realizada usando um UPLC nanoAcquity conectado a um instrumento Q-TOF SYNAPT G2-Si (Waters, Manchester, Reino Unido). As corridas consistiram em três réplicas biológicas de 2,0 µg de amostras de peptídeos. Durante a separação, as amostras foram carregadas em uma coluna trap nanoAcquity UPLC M-Class Symmetry C18 5 µm (180 µm × 20 mm) a 5 µL min⁻¹ durante 3 min e depois em uma coluna analítica de fase reversa (75µm × 150mm) nanoAcquity M-Class HSS T3 1,8 µm a 400 nLmin⁻¹, com uma temperatura de 45 °C. Foi utilizado um gradiente binário para eluição de peptídeos com fase móvel A composta por água (Tedia, Fairfield, Ohio, EUA) e 0,1% de ácido fórmico (Sigma-Aldrich) e fase móvel B composta por acetonitrila (Sigma-Aldrich) e 0,1% de fórmico ácido. O gradiente de eluição começou em 5% B, aumentando para 43,8% até 101, 12 min, e de 43,8% B para 99% B até 105,12 min, sendo mantido em 99% até 109,12 min, depois diminuindo para 5% B até 111, 12 min e mantida a 5% B até o final do experimento a 127,00 min. A espectrometria de massas foi realizada no modo positivo e no modo de resolução (modo V), com 35.000 de FWHM e mobilidade iônica, e no modo de aquisição independente de dados (DIA). A separação por mobilidade iônica (IMS) usou uma velocidade de onda IMS de 800 ms⁻¹(HDMS^E); a energia de colisão de transferência aumentou de 19 para 55V no modo de alta energia; as voltagens do cone e capilar foram 30V e 3000V, respectivamente; e a fonte de temperatura era de 100 °C. Para os parâmetros de tempo de voo (TOF), o tempo de varredura foi definido como 0,5 s no modo contínuo e o intervalo de massa foi de 50 a 2.000 Da. O fibrinopeptídeo B humano [Glu1] (Sigma-Aldrich) a 100 fmolµL⁻¹ foi usado como um calibrante externo e sua aquisição foi realizada a cada 30 s. A aquisição dos espectros de massas foi realizada pelo software MassLynx (versão 4.0, Waters).

5.1.2.4 ANÁLISES DOS DADOS

O processamento dos espectros e as condições de busca no banco de dados foram realizados usando o software ProteinLynx Global SERVER (PLGS) (versão 3.02, Waters). A análise HDMS^E seguiu os parâmetros: Apex3D de 150 contagens para limiar de baixa energia; 50 contagens para limiar de energia elevada; 750 contagens para limite de intensidade; uma clivagem perdida; fragmentos mínimos de íons por peptídeo igual a três; fragmentos mínimos de íons por proteína igual a sete; peptídeos mínimos por proteína igual a dois; modificações fixas de carbamidometil (C) e modificações variáveis de oxidação (M) e fosforil (STY); taxa de descoberta falsa padrão (FDR) de 1%; tolerância automática a peptídeos e fragmentos. A identificação da proteína foi realizada usando o banco de dados de proteínas *Coffea canephora* (ID: UP000295252, 05 de setembro de 2014) disponível no UniProtKB (www.uniprot.org). A análise de quantificação *label-free* foi realizada usando o software ISOQuant v.1.881. Os parâmetros utilizados foram: peptídeo e proteína FDR 1%; comprimento de sequência de pelo menos seis resíduos de aminoácidos; e escore peptídico mínimo igual a seis. As amostras foram normalizadas por um processo de normalização multidimensional, que corrige intensidades de pico com base nos domínios de intensidade e tempo de retenção. O software realizou a quantificação relativa de proteínas com base no método TOP3. Com base nas abundâncias relativas de peptídeos atribuídos exclusivamente, as abundâncias de peptídeos compartilhados foram redistribuídas para as respectivas proteínas de origem, seguidas pela quantificação baseada em top3. Para garantir a qualidade dos resultados após o processamento dos dados, apenas as proteínas presentes nas três corridas foram aceitas para análise de abundância diferencial. Proteínas com um valor de $p < 0,05$ foram consideradas *up*-acumuladas se o valor de $\log_2$ do fold change (FC) for maior que 0,60 e *down*-acumuladas se o valor do $\log_2$ do FC for menor que -0,60. A análise de enriquecimento funcional foi realizada usando o software OmicsBox 1.2.4 (<https://www.biobam.com/omicsbox>).

Para a predição das interações proteína-proteína, os dados brutos foram carregados na plataforma STRING e os processos biológicos e vias do KEGG foram enriquecidos através do software Cytoscape.

5.1.3 RESULTADOS

5.1.3.1 ANÁLISE SENSORIAL

Analizando os dois conjuntos de dados no experimento de campo, destacam-se as diferenças significativas nos atributos de fragrância e equilíbrio ($p < 0,05$). Todos os outros atributos, apresentaram notas estatisticamente equivalentes ($p > 0,05$). O bloco 4 demonstrou médias superiores para fragrância e equilíbrio em comparação com o bloco 2, registrando médias de 73,1 e 71,0 pontos, respectivamente, contra 71,6 e 70,1 (dados não publicados). Analisando os quatro provadores na análise, verificou-se diferença na nota da fragrância entre dois deles, nos cafés colhidos no bloco 2, mas o mesmo não ocorreu no bloco 4, sendo esta a fonte de variação significativa entre os blocos para este atributo (dados não publicados). Os atributos acidez e sensação na boca mostraram diferença entre um dos provadores e outros dois. O atributo equilíbrio, que, assim como a fragrância, recebe efeito da diferença entre blocos, não teve diferença significativa entre os provadores, indicando que não são eles que causaram a diferença entre blocos nesse atributo. Não houve diferença entre os atributos dos genótipos, portanto a causa da diferença entre blocos no atributo equilíbrio é desconhecida.

Segundo os provadores, ainda que a estatística não aponte diferença significativa, a menor diferença apontada pela média atribuída às bebidas já é significativa em sua metodologia. Neste trabalho pelo teste de Kruskal-Wallis, não houve diferença significativa comparando-se as notas sensoriais dos atributos dos genótipos, e nem mesmo na nota final ($p \geq 0,05$). Portanto, seguindo a orientação dos provadores, para realizar as análises proteômicas, optou-se por escolher os genótipos 14 e 5, respectivamente o Jequitibá 205 e o Diamante 105, com notas finais de 78,75 e 80,38, por serem os fenótipos com a menor e maior média sensorial, respectivamente (Tabela 4).

5.1.3.2 ANÁLISE PROTEÔMICA

5.1.3.2.1 *Proteínas diferencialmente acumuladas entre os estágios de maturação*

Um total de 504 proteínas foram identificadas em endosperma de café sob dois níveis de maturação em ambos os genótipos. Desse total, 83 proteínas diferencialmente acumuladas (DAPs) foram observadas na maturação verde e 59 na maturação cereja, ambas comparando-se os genótipos 5/14 (Figura 4). Na maturação verde, 5 DAPs foram *up*-acumuladas e 68 foram *down*-acumuladas, enquanto na maturação cereja, 35 DAPs foram *up*-acumuladas e 16 foram *down*-acumuladas. Esses dados indicam que na maturação verde existe um maior acúmulo de proteínas no genótipo 14, enquanto na maturação cereja foi possível observar um maior acúmulo de proteínas no genótipo 5. Comparando-se os grãos dos frutos verdes dos genótipos 5 e 14, é perceptível um maior número de proteínas *down*-acumuladas, enquanto grãos de frutos maduros possuem um maior número de proteínas *up*-acumuladas (Figura 4). Um total de 13 proteínas foram diferencialmente acumuladas para ambos os estágios de maturação (Figura 4). As proteínas “Proteína contendo o domínio Bet_v_1”, “Piruvato descarboxilase” (PDC), “Chaperona”, “Cadeia beta da tubulina” (TBB) e duas isoformas da “Álcool desidrogenase” (ADH) foram *down*-acumuladas em ambos os estágios (Tabela 5). Enquanto somente a proteína “Transcetolase” (TKT) apresentou-se *up*-acumulada em ambos os estágios de maturação (Tabela 5). Já a proteína “Subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase” (PDH-E1 BETA) foi identificada *down*-acumulada no estágio verde e *up*-acumulada no estágio maduro (Tabela 5).

Em relação ao estágio de maturação verde, foi possível identificar 8 proteínas únicas para o genótipo 14: “proteína induzida por auxina isoforma X1 semelhante a PCNT115” (A115), TBB, PDC, “Proteína contendo domínio 14_3_3”, “ADP/ATP translocase”, “2-alquenal redutase (NADP(+)-dependente)” (DBR) e “Proteína ribossômica 60S L13a-4” (Tabela 5). As proteínas “Proteína relacionada a dessecação semelhante a PCC13-62” (DRPE) e “Proteína ribossômica 30S S3, cloroplástica” foram identificadas como únicas para o genótipo 5 (Tabela 5).

Para a maturação cereja, as proteínas “Proteína contendo domínio G tipo Tr”, “Subunidade beta da ATP sintase” (ATPB), TBB e “Homólogo da proteína 48 do ciclo de divisão celular” (CDC48) foram observadas como únicas para o genótipo 14, enquanto as proteínas A115, “UDP-arabinopiranosose mutase 1” (RGP1), TBB e DRPE foram únicas para o genótipo 5 (Tabela 5).

5.1.3.2.2 Proteínas únicas para os genótipos 5 e 14

Levando-se em consideração as proteínas que podem estar relacionadas às características exclusivas de cada genótipo, nós podemos destacar a proteína DRPE que foi identificada como única para o genótipo 5 em ambos os estágios de maturação e a A115 e RGP1 que foram exclusivas para o genótipo 5 no estágio cereja (Tabela 5). Para o genótipo 14, a proteína TBB foi identificada como única em ambos os estágios de maturação. Algumas proteínas foram acumuladas somente em um dos genótipos, em um ou em ambos os graus de maturação. Elas podem estar envolvidas em vias e processos que culminam nas notas sensoriais obtidas por esses genótipos. No genótipo 14, é notável a expressão de proteínas relacionadas ao processo de divisão celular e de crescimento, como o “Homólogo da proteína 48 do ciclo de divisão celular”, “Tubulinas de cadeia beta”, constituintes dos microtúbulos, e à tradução, como a “Proteína contendo domínio G tipo Tr” e a “Proteína ribossômica 60S L13a-4”, todas, exceto esta última, foram *down*-acumuladas em grãos de frutos maduros comparando-se o genótipo 5 com o 14 (Tab.2).

5.1.3.2.3 Classificação funcional das proteínas diferencialmente acumuladas e interação proteína-proteína (IPP)

Uma análise da via KEGG foi realizada para investigar a função biológica das DAPs. As sequências das maturações foram mapeadas em várias vias. As vias metabólicas na comparação nos grãos de frutos verdes foram em geral mais diversas e representadas por um maior número de sequências. A via da glicólise e gliconeogênese apresentou o maior número de sequências em ambas as maturações, seguida da via das pentoses fosfato, fixação de carbono em organismos fotossintéticos, do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e do metabolismo do piruvato. As vias de biossíntese e degradação de ácidos graxos só foram encontradas nos grãos de frutos ainda verdes (Fig.3). Os grãos de frutos maduros superaram os verdes no número de sequências da via de amino açúcares e açúcares nucleotídeos, foram semelhantes no metabolismo do amido e da sacarose, tirosina, frutose e manose, e somente eles acumularam sequências da via do metabolismo do metano.

A análise de IPP das proteínas *down*-acumuladas na maturação verde 5/14 em conjunto com as proteínas unicamente acumuladas em 14 apresentou 5

agrupamentos de proteínas relacionados às seguintes vias KEGG: processamento de proteínas no retículo endoplasmático (RE), glicólise/gliconeogênese, biossíntese de ácidos graxos, um que reúne proteínas das vias do ciclo do TCA, da fosforilação oxidativa e da tradução concomitantemente, e um grupo formado por SUS3 e AT3G59480 não conectado a uma via (Fig. 3). Todos esses agrupamentos, exceto o de processamento de proteínas, estão conectados à via de biossíntese de metabólitos secundários. A IPP de proteínas *up*-acumuladas na maturação verde 5/14 apresentou um único grupamento, em que a proteína transcetolase (AT2G45290) interage com a frutose bifosfato aldolase (FBA5) pela via das pentoses fosfato, com a proteína contendo o domínio Aconitase_C (AT2G43090) , com a Enoil-[proteína transportadora de acilo] redutase [NADH] 1 cloroplástica (MOD1) e FBA5 por meio da via de biossíntese de metabólitos secundários, e com a AT2G43090 e FBA5 na via de biossíntese de aminoácidos.

A IPP das proteínas *down*-acumuladas na maturação cereja 5/14 e únicas no genótipo 14, resultou em dois agrupamentos de proteínas, um relacionado à via de glicólise/gliconeogênese, conectado a outro grupo por meio da via de resposta a estímulos (Fig. 5). As proteínas *up*-acumuladas na maturação cereja 5/14 e únicas em 5, formaram dois agrupamentos, um deles é relacionado à via de processos biossintéticos de amidas. Dessa mesma via faz parte uma “Proteína contendo o domínio 2-oxoácido_dh” (LTA2) e “Subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase” (MAB1) que interagem com um segundo grupo formado por proteínas relacionadas às vias do metabolismo do amido e da sacarose, glicólise e gliconeogênese, processamento de proteínas no RE e biossíntese de metabólitos secundários (Fig. 6).

5.1.4 DISCUSSÃO

Em relação à análise sensorial, os resultados apontam que os genótipos selecionados possuem notas razoavelmente homogêneas, considerando a significância estatística de 5%, no entanto, suficientemente distintas de acordo com a metodologia empregada. Para rastrear as mudanças proteômicas nesses grãos de café, foi realizada uma análise proteômica “shotgun label-free”. As DAPs compartilhadas em ambas as maturações de ambos os genótipos (Tabela 5) podem

ser úteis como alvos potenciais para estudos funcionais que visem entender como a qualidade é regulada.

Em relação à maturação, a análise da via KEGG produzida pelos grãos dos frutos verdes nos remetem ao seu desenvolvimento fenológico, cujas intensas transformações mediadas por reações bioquímicas interferem diretamente no grão em seu interior, mais pronunciadamente nas vias biossintéticas dos carboidratos, nos genótipos de *Coffea canephora* var. Conilon analisados neste estudo. Nos grãos dos frutos maduros o papel dos aminoácidos parece se destacar por meio de sua ligação com açúcares do grão. Os amino açúcares são moléculas de extrema importância para os seres vivos, podem ser produzidos pelo metabolismo primário e secundário, e possuem funções muito variadas, como antioxidante, antibiótica, antimicótica, antiproliferativa, antitumoral e cardiotônica (Moura et al. 2019).

Embora ainda não haja um consenso entre os pesquisadores, recentemente o metano vem sendo apontado como uma nova molécula sinalizadora em plantas. Ele pode ser produzido por uma via aeróbica e não microbiana, e desempenha papéis importantes como o aumento da tolerância contra estresses abióticos e o desenvolvimento radicular, além de atrasar a senescência e o escurecimento dos tecidos (Li, Wei, and Shen 2020). É possível que a produção desse gás nos grãos de frutos maduros que foi apontada na análise das vias KEGG possua uma função protetora para todo o órgão vegetal.

As redes IPP mostraram que o genótipo 5, de maior qualidade sensorial da bebida, possui menos proteínas relacionadas ao metabolismo energético da glicose e de biossíntese de ácidos graxos, de processamento de proteínas no RE e da tradução, indicando uma redução em todas essas vias metabólicas, em relação ao genótipo 14, na fase verde expandido da maturação do grão. A transcetolase, *up*-acumulada em ambas as maturações do genótipo 5, está envolvida na via das pentoses fosfato e na fase de regeneração da ribulose no ciclo de Calvin, participando da fotossíntese nas plantas. No entanto, acreditamos que essa expressão diferencial não tem a ver com a fotossíntese, uma vez que o tecido analisado é o do endosperma, com embrião imaturo, que não é fotossinteticamente ativo. Segundo Zhang and Bartels (2016), a transcetolase pode catalisar a reação de produção de monossacarídeos de oito carbonos (D-g-D-i-oct-8-fosfato) usando glicose-6-fosfato e frutose-6-fosfato como substrato para proteger a planta das espécies reativas de oxigênio (ROS) durante o estresse hídrico. A “proteína

relacionada à dessecação semelhante à PCC13-62” é uma proteína única nos grãos do genótipo 5, em ambas as maturações. Essas proteínas, *down*-acumuladas e ausentes no genótipo 14, são muito importantes durante o desenvolvimento da semente, na fase de dessecação, onde o estresse hídrico é extremo e muitas espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidas. As ROS diminuem a qualidade sensorial da bebida café, devido ao estresse oxidativo que afeta os lipídios, proteínas e aminoácidos, além de outras substâncias precursoras para o desenvolvimento dos atributos sensoriais dos grãos durante a torra (Rendón, de Jesus Garcia Salva, and Bragagnolo 2014).

A “proteína ribossômica 60S L13a-4” faz parte da subunidade ribossômica maior. Seu funcionamento é interessante pois ela não parece ser essencial para a tradução, no entanto é capaz de silenciá-la, em um mecanismo em que ela é liberada de forma regulada do ribossomo e posteriormente se liga ao seu mRNA alvo (Mazumder et al. 2003). Essa “proteína de interferência” é única nos grãos de frutos verdes do genótipo 14 (Tab.2), sugerindo que parte da tradução está sendo silenciada. Este silenciamento pode interferir no desenvolvimento das fases de maturação do grão, impedindo a tradução de proteínas de vias que culminam nos precursores necessários para a qualidade.

Nos grãos de frutos maduros (cereja), foram *down*-acumuladas em 5/14 e únicas em 14 proteínas glicolíticas, como a (ADH1) e a FAB6, e da via de sinalização a estímulos, como as tubulinas (TUB6) e chaperonas (SHD), indicando que a quebra de glicose para o fornecimento de energia para a histodiferenciação da semente estaria finalizando no genótipo 5, mas não no 14. As proteínas *up*-acumuladas e únicas no genótipo 5, em grãos de frutos maduros, demonstram um redirecionamento do metabolismo energético para o acúmulo de amido e sacarose, as principais substâncias de reserva das sementes, e, em especial a sacarose, uma importante precursora dos atributos sensoriais do café (Clifford and Willson 1985). Em conjunto esses dados sugerem que a degradação da sacarose é menor no genótipo 5 do que no 14.

5.1.5 CONCLUSÃO

Este trabalho selecionou dois genótipos de diferentes médias sensoriais, do programa de melhoramento de *C.canephora* var Conilon, do Incaper, no estado do Espírito Santo, Brasil. Foram comparados seus perfis diferenciais de proteína, em grãos de frutos verdes e maduros. Embora os genótipos tenham revelado um montante pequeno de proteínas diferenciadas, podemos destacar alguns pontos que convergem para uma melhor qualidade de xícara do genótipo 5, em relação ao genótipo 14.

Os resultados obtidos nos possibilitam sugerir que a diferença sensorial entre os genótipos se deve ao seguinte: o genótipo 5 diminui a acumulação de proteínas responsáveis pelo consumo de glicose e pela fase de crescimento da histodiferenciação do endosperma na fase verde expandido, aumenta a acumulação de açúcares de reserva, como a sacarose e o amido, essenciais para uma boa qualidade da bebida gerada por esse grão, assim como de proteínas que oferecem proteção contra o estresse oxidativo da última fase de desenvolvimento da semente, a fase de dessecação, como a transcetolase e a PCC13-62, esta última ausente no genótipo 14. Tudo isso faz com que as substâncias precursoras do sabor e aroma da bebida café estejam presentes e não oxidadas assim que o exocarpo do fruto alcança a cor vermelha, no ponto de colheita. No genótipo 14, mesmo que o exocarpo do fruto aparente estar maduro, há uma menor acumulação de proteínas que indiquem a mobilização de substâncias como carboidratos e lipídios que tipicamente ocorre na fase de maturação do endosperma, e sua proteção na fase de dessecação. Isso pode ter a ver com a “proteína ribossômica 60S L13a-4”, unicamente encontrada no genótipo 14, na maturação verde, que é capaz de silenciar a tradução.

REFERÊNCIAS

Abreu, Hellen Marília Couto de, Paula Macedo Nobile, Milton Massao Shimizu, Paula Yuri Yamamoto, Emerson Alves Silva, Carlos Augusto Colombo, and Paulo Mazzafera. 2012. “Influence of Air Temperature on Proteinase Activity and Beverage Quality in *Coffea Arabica*.” *Brazilian Journal of Botany* 35 (4): 357–76. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042012000400009>.

Alves, André Lúiz, Marcio Solino Pessoa, Paulo Eduardo Narcizo de Souza, Fábio Luís Partelli, Paulo Sérgio Moscon, Edson Correa da Silva, André Oliveira Guimarães, et al. 2018. "Influence of Environmental and Microclimate Factors on the Coffee Beans Quality (C. Canephora): Correlation Between Chemical Analysis and Stable Free Radicals." *Agricultural Sciences* 09 (09): 1173–87. <https://doi.org/10.4236/as.2018.99082>.

Bunn, Christian, Fabio Castro, and Mark Lundy. 2018. "The Impact of Climate Change on Coffee Production in Central America." Report.

Bunn, Christian, Peter Läderach, Oriana Ovalle Rivera, and Dieter Kirschke. 2015. "A Bitter Cup: Climate Change Profile of Global Production of Arabica and Robusta Coffee." *Climatic Change* 129 (1): 89–101. <https://doi.org/10.1007/s10584-014-1306-x>.

Castro, Renato D. De, and Pierre Marraccini. 2006. "Cytology, Biochemistry and Molecular Changes During Coffee Fruit Development." *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18 (March): 175–99. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100013>.

Charrier, A, and J Berthaud. 1988. "Principles and Methods in Coffee Plant Breeding: Coffea Canephora Pierre." *Coffee* 4: 167–97.

Cheng, Bing, Agnelo Furtado, and Robert J. Henry. 2018. "The Coffee Bean Transcriptome Explains the Accumulation of the Major Bean Components Through Ripening." *Scientific Reports* 8 (1): 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29842-4>.

Clifford, M. N., and K. C Willson. 1985. *Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage*. First. Clifford, M.N.; Willson, K.C.

Damerval, Catherine, Dominique De Vienne, Michel Zivy, and Hervé Thiellement. 1986. "Technical Improvements in Two-Dimensional Electrophoresis Increase the Level of Genetic Variation Detected in Wheat-Seedling Proteins." *ELECTROPHORESIS* 7 (1): 52–54. <https://doi.org/10.1002/elps.1150070108>.

Davis, Aaron P., Helen Chadburn, Justin Moat, Robert O'Sullivan, Serene Hargreaves, and Eimear Nic Lughadha. 2019. "High Extinction Risk for Wild Coffee Species and Implications for Coffee Sector Sustainability." *Science Advances* 5 (1): eaav3473. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav3473>.

Feng, Dan, Li Gao, Yusheng Zheng, Dongdong Li, and Peng Zhou. 2020. "Molecular Cloning and Function Characterisation of a Cytoplasmic Fructose-1, 6-

Bisphosphate Aldolase Gene from Coconut (*Cocos Nucifera* L.).” *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 95 (6): 703–11. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1749139>.

Ferrão, R. G., L. H. De Muner, A. F. A. da Fonseca, and M. a. G. Ferrão. 2019. *Conilon Coffee*. Vitória, ES : Incaper, 2019.

Ferrão, R. G., M. a. G. Ferrão, A. F. A. da Fonseca, P. S. Volpi, A. C. Verdin Filho, A. L. Mauri, and J. A. Lani. 2015. “Diamante ES 8112 , ES 8122 Jequitibá e ‘Centenária ES 8132’ : novas cultivares clonais de café Conilon com qualidade de bebida para o Espírito Santo.” June.

Geromel, Clara, Lúcia Pires Ferreira, Fabrice Davrieux, Bernard Guyot, Fabienne Ribeyre, Maria Brígida dos Santos Scholz, Luiz Filipe Protasio Pereira, et al. 2008. “Effects of Shade on the Development and Sugar Metabolism of Coffee (*Coffea Arabica* L.) Fruits.” *Plant Physiology and Biochemistry* 46 (5-6): 569–79. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.02.006>.

Geromel, Clara, Lúcia Pires Ferreira, Sandra Maria Carmelo Guerreiro, Aline Andréia Cavalari, David Pot, Luiz Filipe Protásio Pereira, Thierry Leroy, Luiz Gonzaga Esteves Vieira, Paulo Mazzafera, and Pierre Marraccini. 2006. “Biochemical and Genomic Analysis of Sucrose Metabolism During Coffee (*Coffea Arabica*) Fruit Development.” *Journal of Experimental Botany* 57 (12): 3243–58. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl084>.

Gomes, L. C., F. J. J. A. Bianchi, I. M. Cardoso, R. B. A. Fernandes, E. I. Fernandes Filho, and R. P. O. Schulte. 2020. “Agroforestry Systems Can Mitigate the Impacts of Climate Change on Coffee Production: A Spatially Explicit Assessment in Brazil.” *Agriculture, Ecosystems & Environment* 294 (June): 106858. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106858>.

Grosso, Giuseppe, Agnieszka Micek, Justyna Godos, Salvatore Sciacca, Andrzej Pajak, Miguel A. Martínez-González, Edward L. Giovannucci, and Fabio Galvano. 2016. “Coffee Consumption and Risk of All-Cause, Cardiovascular, and Cancer Mortality in Smokers and Non-Smokers: A Dose-Response Meta-Analysis.” *European Journal of Epidemiology* 31 (12): 1191–1205. <https://doi.org/10.1007/s10654-016-0202-2>.

Harvey, Celia A., Alyssa A. Pritts, Marie J. Zwetsloot, Kees Jansen, Mirjam M. Pulleman, Inge Armbrecht, Jacques Avelino, et al. 2021. “Transformation of Coffee-

Growing Landscapes Across Latin America. A Review.” *Agronomy for Sustainable Development* 41 (5): 62. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00712-0>.

Hernán, Miguel A., Bahi Takkouche, Francisco Caamaño-Isorna, and Juan J. Gestal-Otero. 2002. “A Meta-Analysis of Coffee Drinking, Cigarette Smoking, and the Risk of Parkinson’s Disease.” *Annals of Neurology* 52 (3): 276–84. <https://doi.org/10.1002/ana.10277>.

ICO, International Coffee Organization. 2022. “Coffee Market Report 2022.”

Joët, Thierry, Andréina Laffargue, Jordi Salmona, Sylvie Doulbeau, Frédéric Descroix, Benoît Bertrand, Alexandre de Kochko, and Stéphane Dussert. 2009. “Metabolic Pathways in Tropical Dicotyledonous Albuminous Seeds: *Coffea Arabica* as a Case Study.” *The New Phytologist* 182 (1): 146–62. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02742.x>.

Kleinwächter, Maik, and Dirk Selmar. 2010. “Influence of Drying on the Content of Sugars in Wet Processed Green Arabica Coffees.” *Food Chemistry* 119 (2): 500–504. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.048>.

Koshiro, Yukiko, Mel C. Jackson, Riko Katahira, Ming-Li Wang, Chifumi Nagai, and Hiroshi Ashihara. 2007. “Biosynthesis of Chlorogenic Acids in Growing and Ripening Fruits of *Coffea Arabica* and *Coffea Canephora* Plants.” *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences* 62 (9-10): 731–42. <https://doi.org/10.1515/znc-2007-9-1017>.

Ky, C.-L., B. Doulbeau, B. Guyot, S. Akaffou, A. Charrier, S. Hamon, J. Louarn, and M. Noirot. 2000. “Inheritance of Coffee Bean Sucrose Content in the Interspecific Cross *Coffea Pseudozanguebariae* *Liberica* ‘dewevrei’.” *Plant Breeding* 119 (2): 165–68. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00464.x>.

Lee, Beom-Seok, Kwang Min Koo, Jaihyunk Ryu, Min Jeong Hong, Sang Hoon Kim, Soon-Jae Kwon, Jin-Baek Kim, Jong-il Choi, and Joon-Woo Ahn. 2020. “Overexpression of Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase 1 Enhances Accumulation of Fatty Acids in *Chlamydomonas Reinhardtii*.” *Algal Research* 47 (May): 101825. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101825>.

Lemos, Mayara Fumiere, Consuelo Perez, Pedro Henrique Pereira da Cunha, Paulo Roberto Filgueiras, Lucas Louzada Pereira, Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca, Demian R. Ifa, and Rodrigo Scherer. 2020. “Chemical and Sensory Profile of New Genotypes of Brazilian *Coffea Canephora*.” *Food Chemistry* 310 (April): 125850. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125850>.

Lepelley, Maud, Mohamed Ben Amor, Nelly Martineau, Gerald Cheminade, Victoria Caillet, and James McCarthy. 2012. "Coffee Cysteine Proteinases and Related Inhibitors with High Expression During Grain Maturation and Germination." *BMC Plant Biology* 12 (March): 31. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-31>.

Lepelley, Maud, Gerald Cheminade, Nicolas Tremillon, Andrew Simkin, Victoria Caillet, and James McCarthy. 2007. "Chlorogenic Acid Synthesis in Coffee: An Analysis of CGA Content and Real-Time RT-PCR Expression of HCT, HQT, C3H1, and CCoAOMT1 Genes During Grain Development in *C. Canephora*." *Plant Science* 172 (5): 978–96. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.02.004>.

Leroy, Thierry, Fabien De Bellis, Hyacinthe Legnate, Edmund Kananura, Gustavo Gonzales, Luiz Felipe Pereira, Alan Carvalho Andrade, et al. 2011. "Improving the Quality of African Robustas: QTLs for Yield- and Quality-Related Traits in *Coffea Canephora*." *Tree Genetics & Genomes* 7 (4): 781–98. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0374-6>.

Leroy, T., P. Marraccini, M. Dufour, C. Montagnon, P. Lashermes, X. Sabau, L. P. Ferreira, et al. 2005. "Construction and Characterization of a *Coffea Canephora* BAC Library to Study the Organization of Sucrose Biosynthesis Genes." *Theoretical and Applied Genetics* 111 (6): 1032–41. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0018-z>.

Li, Longna, Siqi Wei, and Wenbiao Shen. 2020. "The Role of Methane in Plant Physiology: A Review." *Plant Cell Reports* 39 (2): 171–79. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02478-y>.

Lim, Loong-Tak, Matthew Zwicker, and Xiuju Wang. 2019. "4.22 - Coffee: One of the Most Consumed Beverages in the World." In *Comprehensive Biotechnology (Third Edition)*, edited by Murray Moo-Young, 275–85. Oxford: Pergamon. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00462-6>.

López-García, Francisco Javier, Esteban Escamilla-Prado, Alfredo Zamarripa-Colmenero, and J. Guillermo Cruz-Castillo. 2016. "Yield and Quality of Coffee Cultivars (*Coffea Arabica* L.) In Veracruz, México." *Revista Fitotecnia Mexicana* 39 (3): 297–304.

Mazumder, Barsanjit, Prabha Sampath, Vasudevan Seshadri, Ratan K Maitra, Paul E DiCorleto, and Paul L Fox. 2003. "Regulated Release of L13a from the 60S

Ribosomal Subunit as A Mechanism of Transcript-Specific Translational Control.” *Cell* 115 (2): 187–98. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00773-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00773-6).

Mizuno, Kouichi, Misako Kato, Fumi Irino, Naho Yoneyama, Tatsuhito Fujimura, and Hiroshi Ashihara. 2003. “The First Committed Step Reaction of Caffeine Biosynthesis: 7-Methylxanthosine Synthase Is Closely Homologous to Caffeine Synthases in Coffee (*Coffea Arabica* L.).” *FEBS Letters* 547 (1-3): 56–60. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)00670-7](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)00670-7).

Mondego, Jorge MC, Ramon O Vidal, Marcelo F Carazzolle, Eric K Tokuda, Lucas P Parizzi, Gustavo GL Costa, Luiz FP Pereira, et al. 2011. “An EST-based Analysis Identifies New Genes and Reveals Distinctive Gene Expression Features of *Coffea Arabica* and *Coffea Canephora*.” *BMC Plant Biology* 11 (1): 30. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-30>.

Moura, Aldicéia Luiz de, Bruna Martins Guimarães, Josefa Aqueline da Cunha Lima, Mauricélia M. Sousa Mata, Jadson Farias da Silva, Ronaldo N. Oliveira, Juliano Carlo Rufino de Freitas, and João R. de Freitas. 2019. “Avanços recentes na química dos aminoácidos: ocorrência, biossíntese, síntese e aplicação.” *Química Nova* 42 (August): 642–60. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170357>.

Nanjo, Yohei, Ludovit Skultety, L’ubica Uváčková, Katarína Klubíková, Martin Hajdúch, and Setsuko Komatsu. 2012. “Mass Spectrometry-Based Analysis of Proteomic Changes in the Root Tips of Flooded Soybean Seedlings.” *Journal of Proteome Research* 11 (1): 372–85. <https://doi.org/10.1021/pr200701y>.

Nohara-Shitama, Yume, Hisashi Adachi, Mika Enomoto, Ako Fukami, Sachiko Nakamura, Shoko Kono, Nagisa Morikawa, et al. 2019. “Habitual Coffee Intake Reduces All-Cause Mortality by Decreasing Heart Rate.” *Heart and Vessels* 34 (11): 1823–29. <https://doi.org/10.1007/s00380-019-01422-0>.

Ogawa, M., Y. Herai, N. Koizumi, T. Kusano, and H. Sano. 2001. “7-Methylxanthine Methyltransferase of Coffee Plants. Gene Isolation and Enzymatic Properties.” *The Journal of Biological Chemistry* 276 (11): 8213–18. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009480200>.

Oliveira, Fernanda Freitas de, Juarez Pires Tomaz, Bruna Silvestre Rodrigues da Silva, Tiago Benedito dos Santos, Ivamoto-Suzuki, Maria Brígida dos Santos Scholz, and Luiz Filipe Protasio Pereira. 2021. “*Coffea Arabica* L. Genes from Isoprenoid Metabolic Pathways Are More Expressed in Full Sun Cultivation Systems

Than in Agroforestry Systems.” *Plant Gene* 26 (June): 100287. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2021.100287>.

Pinto, Vitor Batista, Vinicius Costa Almeida, Ítalo A. Pereira-Lima, Ellen Moura Vale, Wagner L. Araújo, Vanildo Silveira, and José Marcelo Soriano Viana. 2021. “Deciphering the Major Metabolic Pathways Associated with Aluminum Tolerance in Popcorn Roots Using Label-Free Quantitative Proteomics.” *Planta* 254 (6): 132. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03786-y>.

Privat, Isabelle, Séverine Foucrier, Anneke Prins, Thibaut Epalle, Magali Eychenne, Laurianne Kandalaft, Victoria Caillet, et al. 2008. “Differential Regulation of Grain Sucrose Accumulation and Metabolism in *Coffea Arabica* (Arabica) and *Coffea Canephora* (Robusta) Revealed Through Gene Expression and Enzyme Activity Analysis.” *New Phytologist* 178 (4): 781–97. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02425.x>.

Rendón, Mery Yovana, Terezinha de Jesus Garcia Salva, and Neura Bragagnolo. 2014. “Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee beans during storage.” *Food Chemistry* 147 (March): 279–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.123>.

Sant’Ana, Gustavo C., Luiz F. P. Pereira, David Pot, Ivamoto, Douglas S. Domingues, Rafaelle V. Ferreira, Natalia F. Pagiatto, et al. 2018. “Genome-Wide Association Study Reveals Candidate Genes Influencing Lipids and Diterpenes Contents in *Coffea Arabica* L.” *Scientific Reports* 8 (1): 465. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18800-1>.

Santos, F. C., A. C. S. Clemente, F. Caixeta, and S. D. V. F. Rosa. 2015. “Endo--Mannanase and -Tubulin Gene Expression During the Final Phases of Coffee Seed Maturation.” *Genetics and Molecular Research* 14 (4): 11719–28. <https://doi.org/10.4238/2015.October.2.5>.

Smrke, Samo, Ivana Kroslovakova, Alexia N. Gloess, and Chahan Yeretizian. 2015. “Differentiation of Degrees of Ripeness of Catuai and Tipica Green Coffee by Chromatographical and Statistical Techniques.” *Food Chemistry* 174 (May): 637–42. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.060>.

Uefuji, Hirotaka, Shinjiro Ogita, Yube Yamaguchi, Nozomu Koizumi, and Hiroshi Sano. 2003. “Molecular Cloning and Functional Characterization of Three Distinct N-methyltransferases Involved in the Caffeine Biosynthetic Pathway in

Coffee Plants.” *Plant Physiology* 132 (1): 372–80. <https://doi.org/10.1104/pp.102.019679>.

Yadessa, Abebe, Burkhardt Juergen, Bekele Endashaw, Hundera Kitessa, and Goldbach Heiner. 2020. “The Major Factors Influencing Coffee Quality in Ethiopia: The Case of Wild Arabica Coffee (*Coffea Arabica* L.) From Its Natural Habitat of Southwest and Southeast Afromontane Rainforests.” *African Journal of Plant Science* 14 (6): 213–30. <https://doi.org/10.5897/AJPS2020.1976>.

Yamakawa, Michiyo, Keiko Wada, Yuko Goto, Fumi Mizuta, Sachi Koda, Takahiro Uji, and Chisato Nagata. 2019. “Associations Between Coffee Consumption and All-Cause and Cause-Specific Mortality in a Japanese City: The Takayama Study.” *Public Health Nutrition* 22 (14): 2561–68. <https://doi.org/10.1017/S1368980019000764>.

Zhang, Qingwei, and Dorothea Bartels. 2016. “Physiological Factors Determine the Accumulation of D-glycero-D-ido-octulose (D-g-D-i-oct) in the Desiccation Tolerant Resurrection Plant *Craterostigma Plantagineum*.” *Functional Plant Biology: FPB* 43 (7): 684–94. <https://doi.org/10.1071/FP15278>.

TABELA 4 — NOTAS DAS ANÁLISES SENSORIAIS DOS GENÓTIPOS SELECIONADOS EM CONJUNTO COM O INCAPER. FORAM REALIZADOS OS TESTES ESTATÍSTICOS DE KRUSKAL WALLIS, E POST HOC DE DUNN E WILCOXON COM CORREÇÃO DE BENJAMINI-HOCHBERG (P=0,05). A MAIORIA DOS TESTES NÃO RESULTOU EM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA (P<0,05), POR ISSO OPTOU-SE POR INCLUIR AS POUCAS DIFERENÇAS ENCONTRADAS NO TEXTO.

Genótipos	Atributos										
	Fragrância	Sabor	Retrogosto	Acidez	Doçura	Sensação na boca	Uniformidade	Equilíbrio	Limpeza	Conjunto	Nota final
101	72,2 ± 0,27	71,3 ± 0,18	69,4 ± 0,28	70,0 ± 0,18	100 ± 0,00	70,0 ± 0,31	100 ± 0,00	70,3 ± 0,11	100 ± 0,00	70,0 ± 0,35	79,31 ± 0,96
102	71,9 ± 0,13	71,9 ± 0,13	70,3 ± 0,11	70,9 ± 0,21	100 ± 0,00	71,3 ± 0,00	100 ± 0,00	71,3 ± 0,18	100 ± 0,00	70,9 ± 0,21	79,84 ± 0,76
105	72,5 ± 0,25	71,6 ± 0,11	71,6 ± 0,21	71,2 ± 0,18	100 ± 0,00	73,1 ± 0,28	100 ± 0,00	72,8 ± 0,11	100 ± 0,00	72,2 ± 0,11	80,38 ± 0,77
108	73,1 ± 0,13	70,6 ± 0,41	69,7 ± 0,21	68,7 ± 0,47	100 ± 0,00	69,1 ± 0,45	100 ± 0,00	71,7 ± 0,27	100 ± 0,00	70,9 ± 0,27	79,31 ± 1,59
201	73,1 ± 0,41	72,5 ± 0,25	70,3 ± 0,27	70,9 ± 0,48	100 ± 0,00	71,2 ± 0,53	100 ± 0,00	72,3 ± 0,40	100 ± 0,00	71,9 ± 0,22	80,12 ± 1,90
205	71,9 ± 0,22	70,6 ± 0,13	68,7 ± 0,18	68,1 ± 0,41	100 ± 0,00	69,4 ± 0,52	100 ± 0,00	72,9 ± 0,18	100 ± 0,00	70,0 ± 0,18	78,75 ± 0,73
306	71,2 ± 0,18	70,6 ± 0,38	68,7 ± 0,40	68,7 ± 0,40	100 ± 0,00	69,4 ± 0,41	100 ± 0,00	71,9 ± 0,27	100 ± 0,00	70,3 ± 0,11	78,87 ± 1,90
307	71,6 ± 0,32	71,2 ± 0,18	68,7 ± 0,18	69,7 ± 0,21	100 ± 0,00	70,3 ± 0,41	100 ± 0,00	71,7 ± 0,35	100 ± 0,00	70,6 ± 0,13	79,22 ± 1,04
83	73,8 ± 0,28	71,3 ± 0,31	70,0 ± 0,21	70,0 ± 0,32	100 ± 0,00	71,9 ± 0,37	100 ± 0,00	71,3 ± 0,28	100 ± 0,00	71,9 ± 0,21	80,31 ± 1,82
31	73,8 ± 0,13	72,5 ± 0,13	70,6 ± 0,00	71,9 ± 0,18	100 ± 0,00	70,6 ± 0,00	100 ± 0,00	71,3 ± 0,00	100 ± 0,00	71,3 ± 0,13	79,81 ± 0,51

Fonte: a autora (2022).

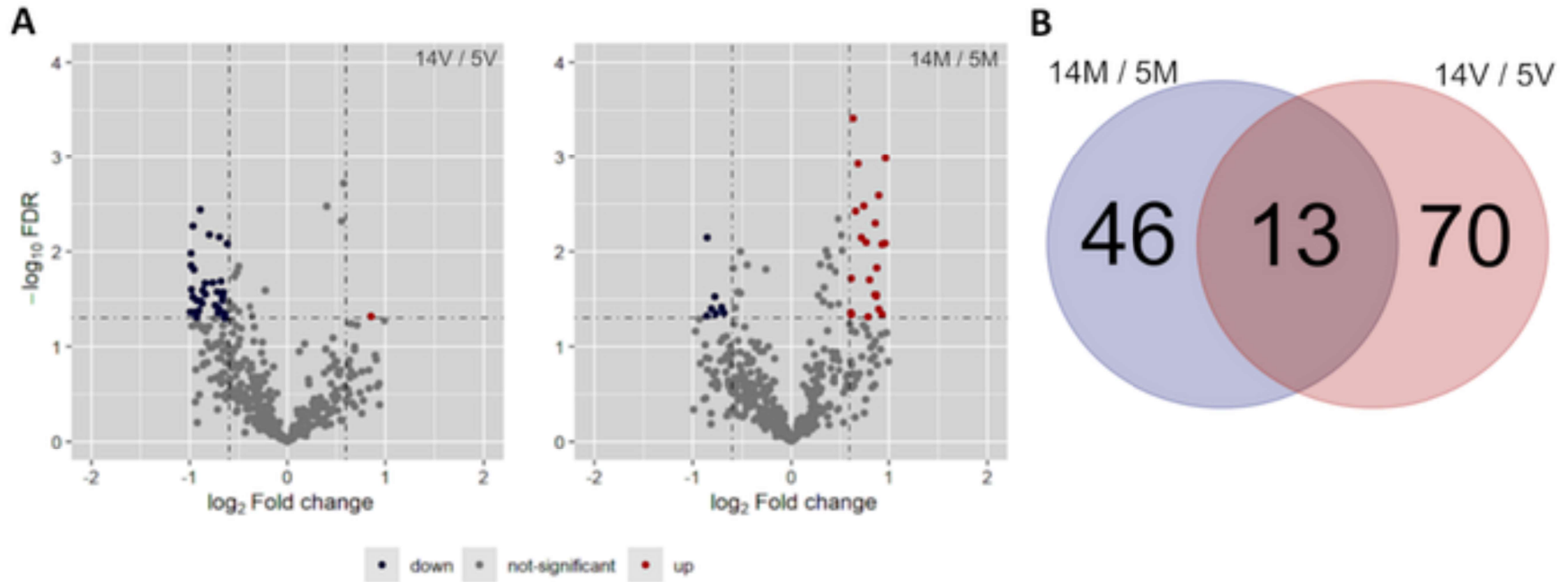
TABELA 5 — PRINCIPAIS PROTEÍNAS DIFERENCIALMENTE ACUMULADAS NOS GENÓTIPOS 5 E 14 EM GRÃOS DE FRUTOS VERDE EXPANDIDOS E MADUROS (CEREJAS), NA COMPARAÇÃO 5/14. *IPP – INTERAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA, FIGURAS 3, 4, 5 E 6.

ID da proteína	Descrição	log2 FC 5	DAP 5	log2 FC 14	DAP 14	Abreviação na IPP*
A0A068VH71	Proteína contendo domínio Aldo_ket_red	1,4239	UP_5V	–	–	ATB2
A0A068V1B5	Frutose bisfosfato aldolase	1,1742	UP_5V	–	–	FBA5
A0A068V9Q7	Enoil-[proteína transportadora de acilo] redutase [NADH] 1, cloroplástica	1,2561	UP_5V	–	–	MOD1
A0A068UNU1	Proteína contendo o domínio Aconitase_C	0,8515	UP_5V	–	–	AT2G43090
A0A068U576	Proteína relacionada a dessecação semelhante a PCC13-62	–	Unique_5V Unique_5M	–	–	AT1G47980
A0A068TNZ0	Transcetolase	1,6603 1,2418	UP_5V UP_5M	–	–	AT2G45290
A0A068U3L8	Proteína ribossômica 30S S3, cloroplástica	–	Unique_5V	–	–	AT5G35530
A0A068UP52	Proteína induzida por auxina isoforma X1 semelhante a PCNT115	–	Unique_5M	–	–	ATB2
A0A068VH96	UDP-arabinopiranosose mutase 1	–	Unique_5M	–	–	RGP1
A0A068UGQ6	Tubulina de cadeia beta	–	Unique_5M	–	Unique_14V	TUB1
A0A068V5X8	Proteína contendo domínio 14_3_3	2,0264	UP_5M	–	Unique_14V	At2g42590
A0A068UP63	Proteína contendo o domínio Bet_v_1	-0,6388 -0,7085	DOWN_5V DOWN_5M	–	–	–
A0A068UGP7	Chaperona	-1,7091 -1,8049	DOWN_5V DOWN_5M	–	–	SHD
A0A068UKE9	2-alquenol redutase (NADP(+)-dependente)	-0,8587	DOWN_5M	–	Unique_14V	AT5G17000
A0A068UD85	Piruvato descarboxilase	-1,4447 -1,4582	DOWN_5V DOWN_5M	–	–	AT5G01320
A0A068TQV6	Subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase	-0,7438 0,6106	DOWN_5V UP_5M	–	–	MAB1
A0A068UAT2	Álcool desidrogenase 1	-1,0780 -0,7769	DOWN_5V DOWN_5M	–	–	ADH1
A0A068UUM8	Álcool desidrogenase	-1,9122	DOWN_5V DOWN_5M	–	–	ADH1
A0A068VJS3	Proteína induzida por auxina PCNT115	–	–	–	Unique_14V	ATB2
A0A068TVJ6	Piruvato descarboxilase	–	–	–	Unique_14V	AT4G33070
A0A068TQ30	Tubulina de cadeia beta	–	–	–	Unique_14V	TUB6

ID da proteína	Descrição	log2 FC 5	DAP 5	log2 FC 14	DAP 14	Abreviação na IPP*
					Unique_14M	
A0A068V2T9	Translocase ADP/ATP	–	–	–	Unique_14V	AAC3
A0A068U5V5	Proteína ribossômica 60S L13a-4	–	–	–	Unique_14V	AT3G24830
A0A068UKZ7	Proteína contendo domínio G tipo Tr	–	–	–	Unique_14M	At1g07940
A0A068U2H4	Subunidade beta da ATP sintase	–	–	–	Unique_14M	AT5G08680
A0A068UGL5	Homólogo da proteína 48 do ciclo de divisão celular	–	–	–	Unique_14M	AtCDC48B

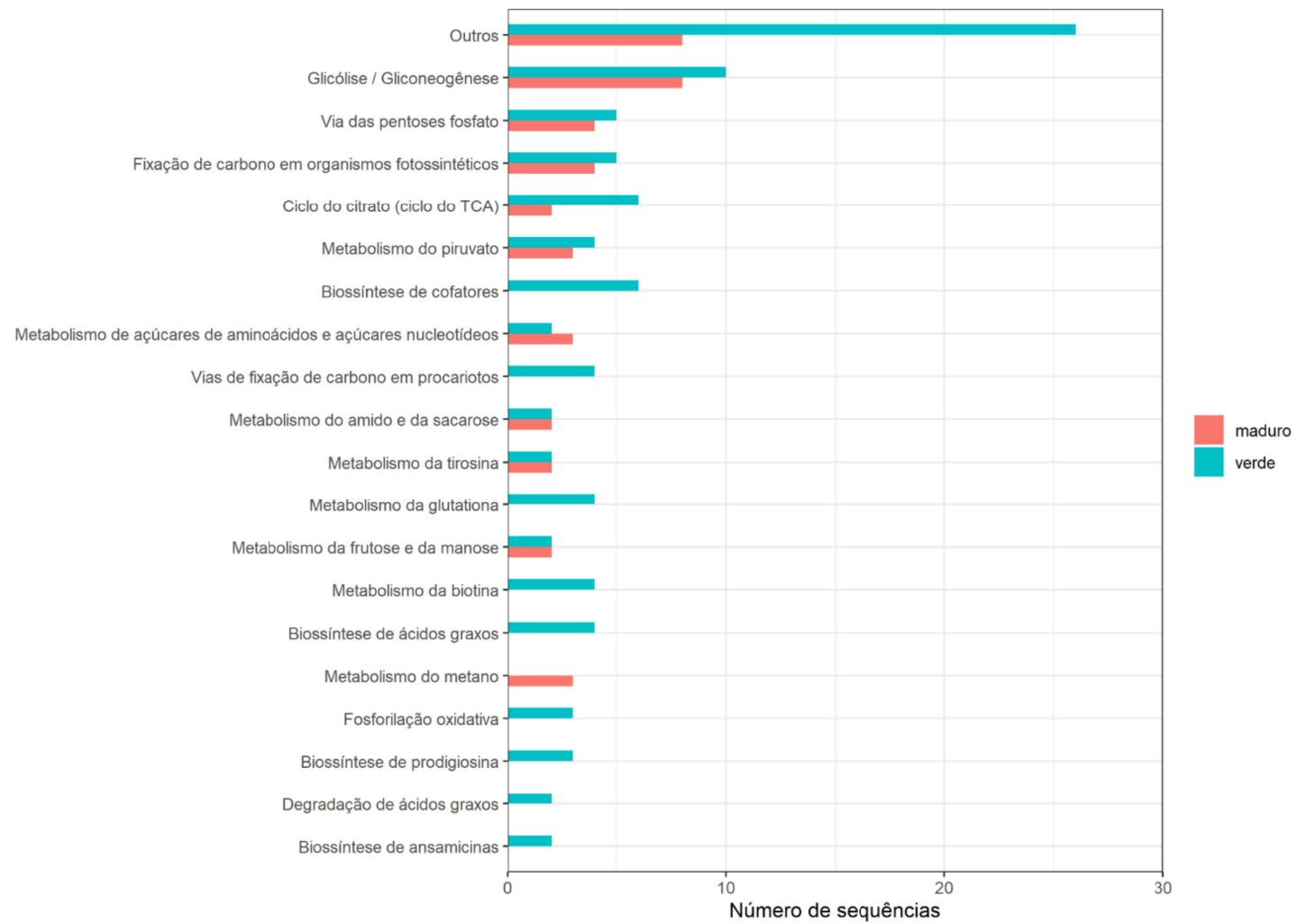
Fonte: a autora (2022).

FIGURA 4 — VOLCANO PLOTS E GRÁFICO DE VENN, COMPARANDO OS GENÓTIPOS 14 E 5 O MESMO GRAU DE MATURAÇÃO. A: DAPS ACUMULADAS EM GRÃOS DE AMBOS OS GENÓTIPOS VERDES E MADUROS, RESPECTIVAMENTE (5V/14V, 5M/14M) B: NÚMERO DE DAPS ACUMULADAS EM GRÃOS DE AMBOS OS GENÓTIPOS VERDES E MADUROS, RESPECTIVAMENTE (5V/14V, 5M/14M).



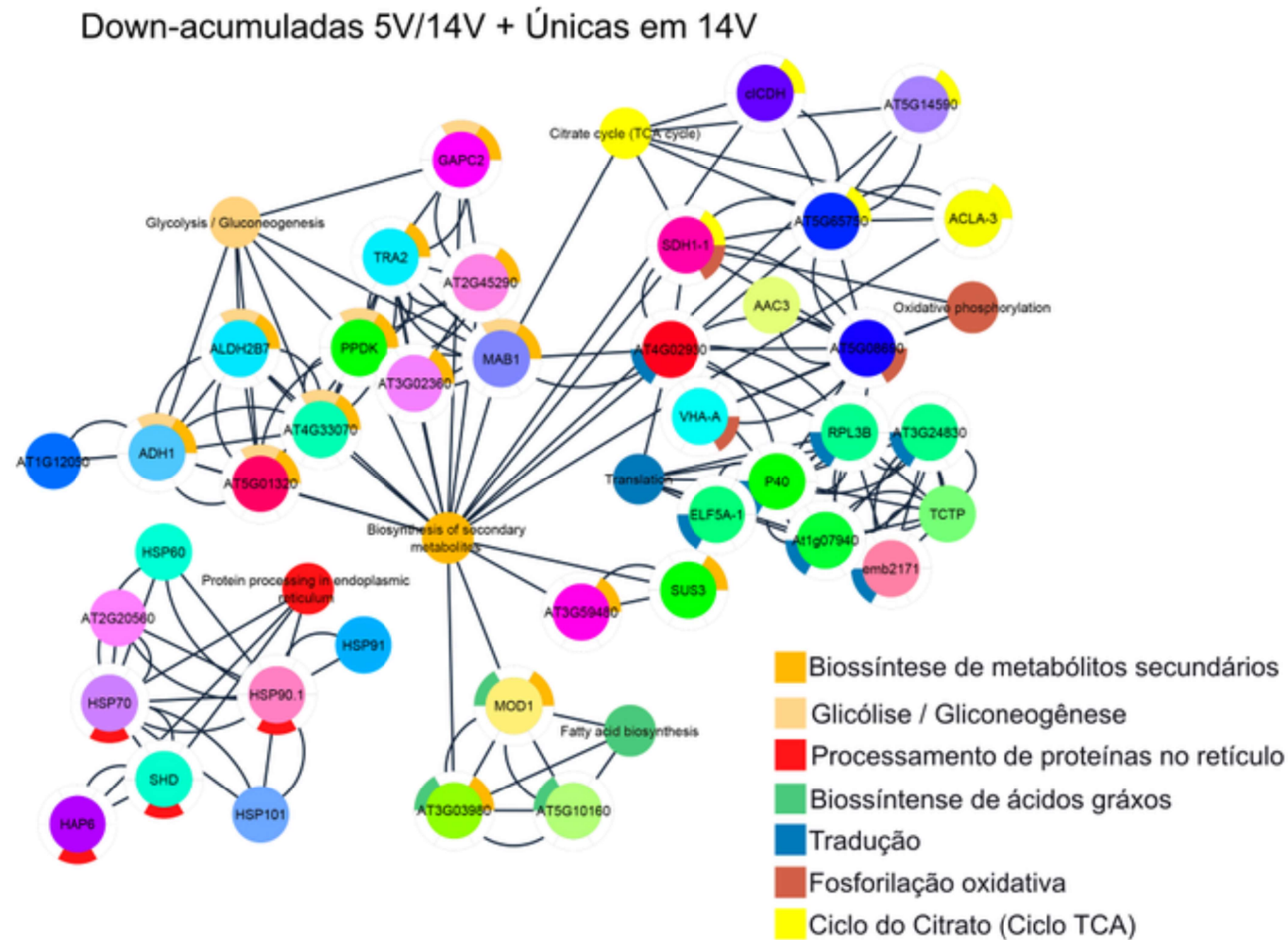
Fonte: a autora (2022).

FIGURA 5 - ANÁLISE DO NÚMERO DE SEQUÊNCIAS KEGG.



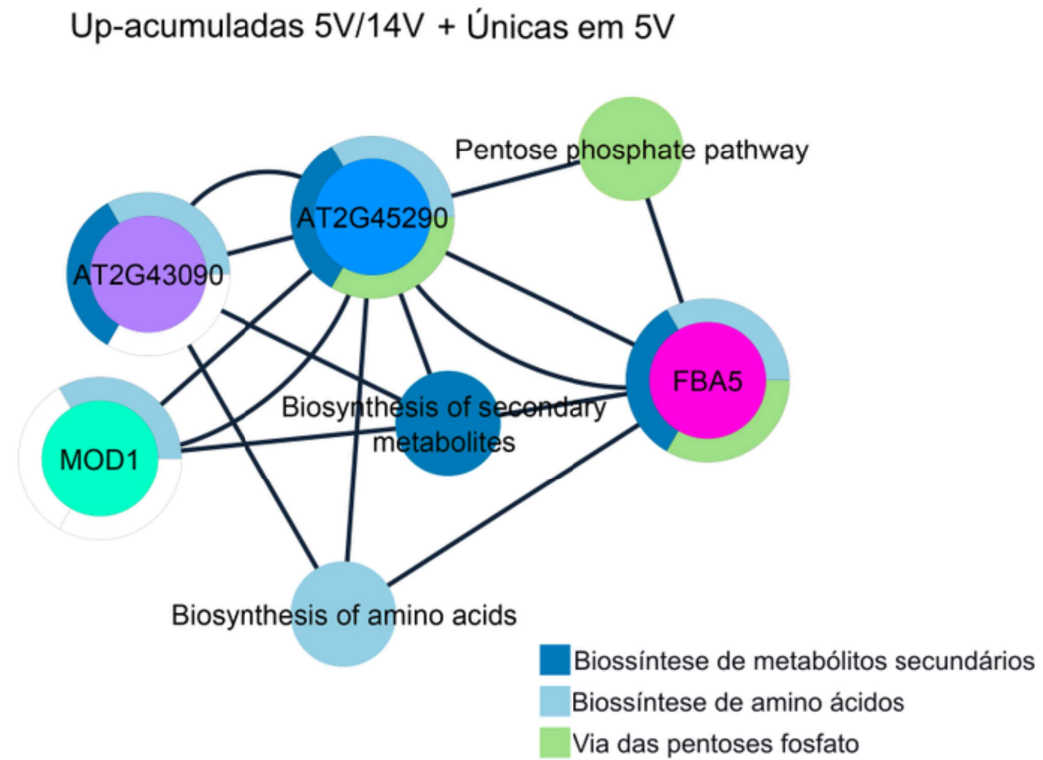
Fonte: a autora (2022).

FIGURA 6 — REDE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA -PROTEÍNA (IPP) ENTRE PROTEÍNAS DOWN-ACUMULADAS EM RELAÇÃO AO GENÓTIPO 14, E ÚNICAS DO GENÓTIPO 14, NO ESTÁGIO VERDE EXPANDIDO



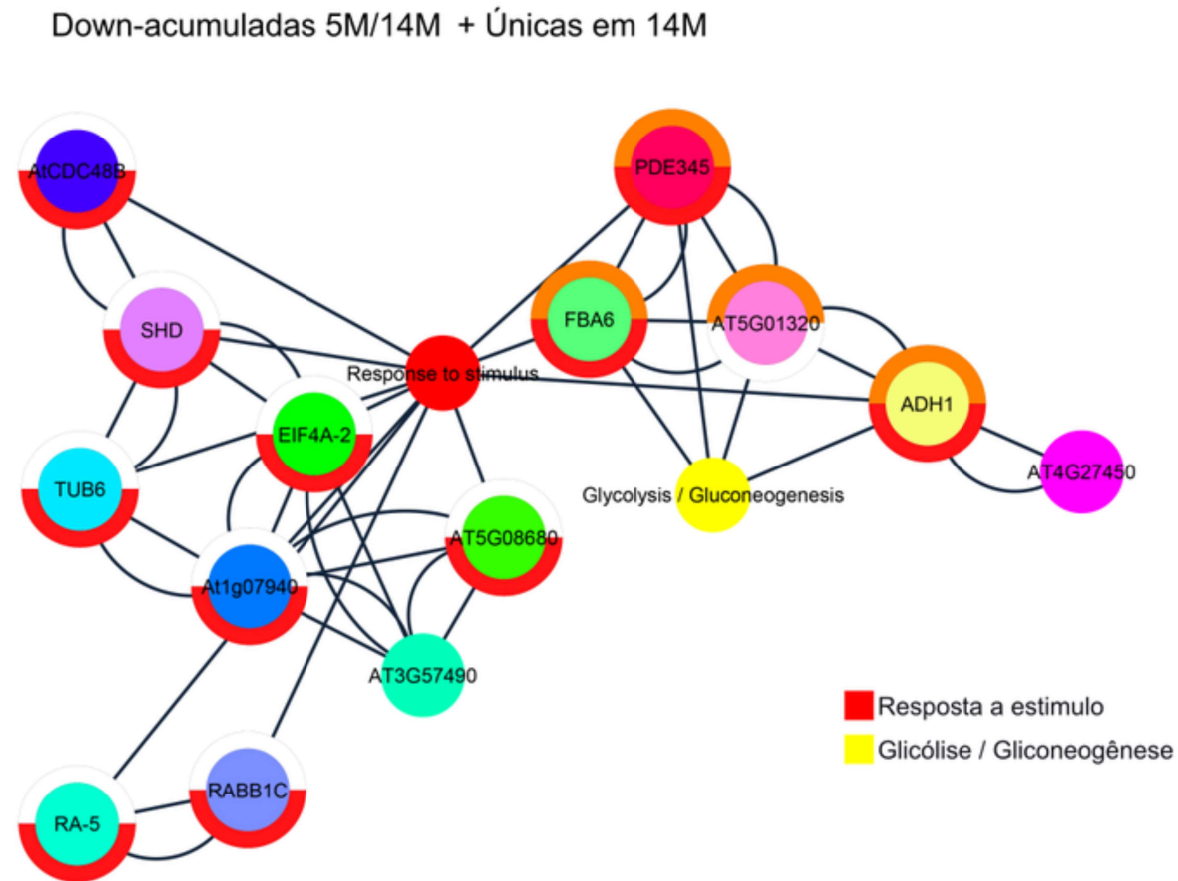
Fonte: a autora (2022).

FIGURA 7 — REDE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA -PROTEÍNA (IPP) ENTRE PROTEÍNAS UP-ACUMULADAS E ÚNICAS DO GENÓTIPO 5 EM RELAÇÃO AO GENÓTIPO 14 NO ESTÁGIO VERDE EXPANDIDO.



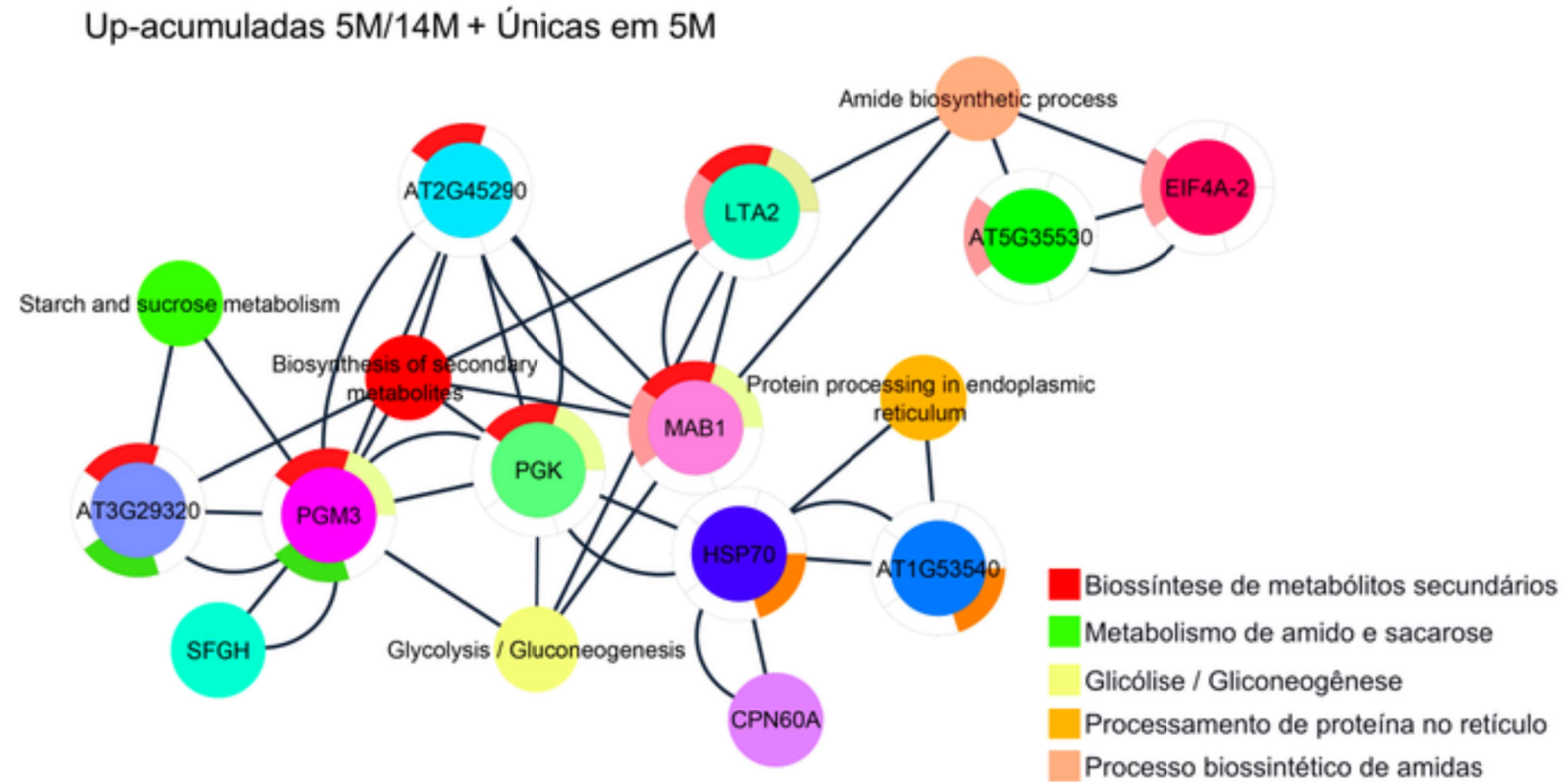
Fonte: a autora (2022).

FIGURA 8 — REDE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA -PROTEÍNA (IPP) ENTRE PROTEÍNAS DOWN-ACUMULADAS DO GENÓTIPO 5 EM RELAÇÃO AO GENÓTIPO 14, E ÚNICAS DO GENÓTIPO 14, NO ESTÁGIO CEREJA (100% MADURO).



Fonte: a autora (2022).

FIGURA 9 — REDE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA -PROTEÍNA (IPP) ENTRE PROTEÍNAS UP-ACUMULADAS E ÚNICAS DO GENÓTIPO 5 EM RELAÇÃO AO GENÓTIPO 14 NO ESTÁGIO CEREJA (100% MADURO).



Fonte: a autora (2022).

6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos, devido a avanços tecnológicos em várias áreas, a pesquisa sobre a qualidade, autenticidade e segurança na área de ciências de alimentos tem crescido. Entre esses avanços, a combinação da cromatografia e da espectrometria de massas resultou em um salto de desenvolvimento no campo das “ômicas”, um conjunto de ferramentas cada vez mais utilizada em todas as áreas. Essa expansão se desdobrou na criação de outros campos do conhecimento, como a “foodômica”, que engloba a aplicação de todas as ferramentas ômicas na ciência de alimentos. Apesar disso, esse campo ainda está em crescimento, com muitas descobertas a serem feitas e lacunas a serem preenchidas. A pesquisa da qualidade sensorial de muitas bebidas e alimentos se encaixa nesse contexto.

Com a intenção de descobrir marcadores químicos e biológicos, em nível molecular, dos precursores da qualidade em grãos verdes de café e o perfil sensorial de sua bebida após a torra, foi utilizada a estratégia de unir o conhecimento sobre a composição química do café conilon, com a proteômica “label-free”, em uma abordagem do campo da foodômica. Essa estratégia possibilitou a descoberta de que, no caso dos genótipos de conilon Diamante, Jequitibá e Centenária, desenvolvidos pelo Incaper, o genótipo se sobrepõe ao percentual de maturação, em relação ao efeito sobre a qualidade da bebida e atividade antioxidante, caso haja no mínimo 60% de frutos completamente maduros. A diferença entre as notas sensoriais dos conilons em relação ao genótipo de arábica foram pequenas, apesar de suas maiores atividades antioxidantes e maiores teores de ácidos clorogênicos e de cafeína, o que diminui a qualidade da bebida. A variável que mais contribuiu para a diferença sensorial entre os conilons e o arábica investigados foi o teor de lipídios. As variáveis que se correlacionaram negativamente com a qualidade da bebida foram os minerais, em sua maioria, cinzas e proteínas. As que se correlacionaram positivamente foram lipídios e trigonelina.

Os resultados da proteômica mostraram que o genótipo 5 (D105) diminui a glicólise, a biossíntese de ácidos graxos e a maior parte da biossíntese de metabólitos secundários na fase verde expandido, e ativa as vias de biossíntese de amido e sacarose, em oposição ao que ocorre no genótipo 14 (J205). Na fase de maturação cereja (100% maduro) a glicólise permanece diminuída, assim como a

resposta a estímulos, e a produção de metabólitos secundários, sacarose, amido e amidas, aumenta. Isso pode representar uma maior acumulação de carboidratos em ambas as fases de maturação e de metabólitos secundários e trigonelina, por meio da via biossintética das amidas, na fase cereja. Além disso, na fase verde expandido, foi encontrado no genótipo 5 um maior acúmulo de transcetolases, e a proteína PCC13-62, que não foi encontrada no genótipo 14. Ambas atuam na proteção do endosperma contra o estresse oxidativo causado pela dessecação, que ocorre na última fase de desenvolvimento da semente. Isso representa uma maior resistência do grão do genótipo 5 à oxidação, que compromete a qualidade dos precursores da bebida café.

Esse conjunto de eventos metabólicos pode responder porque o genótipo 5 tem uma bebida de qualidade superior ao genótipo 14, e uma das maiores da série histórica de análises sensoriais entre os genótipos desenvolvidos pelo Incaper, segundo seus melhoristas. Para os genótipos analisados, os marcadores químicos de qualidade, que os aproximam da média sensorial do arábica Catuaí 81, são a sacarose, o amido, metabólitos secundários, trigonelina e proteínas de resistência ao estresse oxidativo. Cada um desses marcadores químicos possui vários genes que expressam proteínas de suas vias biossintéticas. Alguns genes candidatos interessantes para o melhoramento das cultivares estudadas nesse trabalho seriam, portanto, os genes da transcetolase (GSCOC_T00015118001), sacarose sintase 3 (GSCOC_T00005027001), sacarose sintase 4 (*sus1*), Frutose-bisfosfato aldolase 5 (GSCOC_T00038693001), 2-oxiácido desidrogenase acil transferase (GSCOC_T00032599001), subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase (GSCOC_T00022847001), fosfoglucomutase (alfa-d-glicose-1,6-bifosfato dependente) (GSCOC_T00032908001) e o da proteína relacionada à dessecação semelhante à PCC13-62 (GSCOC_T00015253001).

REFERÊNCIAS

AFZAAL, M. *et al.* Proteomics as a promising biomarker in food authentication, quality and safety: A review. **Food Science & Nutrition**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 2333–2346, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/fsn3.2842>. Acesso em: 16 jan. 2023.

AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 239–244, 1 abr. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166910002223>. Acesso em: 18 out. 2022.

ASSIS, G. A. *et al.* Crescimento e produtividade de cafeeiros na região do Alto Paranaíba em função do tipo de poda e uso de desbrota. **Revista Ciência Agrícola**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 9–21, 6 out. 2018. Disponível em: <https://www.seer.ufal.br/index.php/revistacienciaagricola/article/view/4467>. Acesso em: 14 jan. 2023.

BAQUETA, M. R. *et al.* Brazilian Canephora coffee evaluation using NIR spectroscopy and discriminant chemometric techniques. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 116, p. 105065, mar. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157522006834>. Acesso em: 16 jan. 2023.

BUNN, C.; CASTRO, F.; LUNDY, M. **The impact of climate change on coffee production in Central America**. Report. [S. l.: s. n.], 14 jun. 2018. Disponível em: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/93348>. Acesso em: 19 dez. 2022.

CARVALHO, H. F. *et al.* The effect of bienniality on genomic prediction of yield in arabica coffee. **Euphytica**, [S. l.], v. 216, n. 6, p. 101, 4 jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02641-7>. Acesso em: 20 out. 2022.

CHEN, E. Y. *et al.* Chapter 3 - Understanding and utilizing the biomolecule/nanosystems interface. In: USKOKOVIĆ, V.; USKOKOVIĆ, D. P. (org.). **Nanotechnologies in Preventive and Regenerative Medicine**. Micro and Nano Technologies. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 207–297. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323480635000034>. Acesso em: 16 jan. 2023.

CHENG, B. *et al.* Slower development of lower canopy beans produces better coffee. **Journal of Experimental Botany**, Citation Key: cheng2020, v. 71, n. 14, p. 4201–4214, 6 jul. 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/jxb/article/71/14/4201/5811182>. Acesso em: 6 out. 2022.

CHENG, B.; FURTADO, A.; HENRY, R. J. The coffee bean transcriptome explains the accumulation of the major bean components through ripening. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 1–11, 30 jul. 2018. Disponível em: <https://www-nature.ez120.periodicos.capes.gov.br/articles/s41598-018-29842-4>. Acesso em: 25 maio 2022.

CIFUENTES, A. Food analysis and Foodomics. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1216, n. 43, p. 7109, out. 2009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967309013545>. Acesso em: 16 jan. 2023.

CLEMENTE, J. M. *et al.* Boron, Copper, and Zinc Affect the Productivity, Cup Quality, and Chemical Compounds in Coffee Beans. **Journal of Food Quality**, [S. l.], v. 2018, p. e7960231, 14 maio 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jfq/2018/7960231/>. Acesso em: 23 jun. 2022.

CONAB. Conab - Safra Brasileira de Café. 2022. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>. Acesso em: 13 jan. 2023.

CONSÓRCIO PESQUISA CAFÉ. Programa de Pesquisa. 2022. Disponível em: <http://www.consorciopesquisacafe.com.br/index.php/programa-de-pesquisa/separador-4/apresentacao>. Acesso em: 13 jan. 2023.

CORREIA, R. M. *et al.* Analysis of Robusta coffee cultivated in agroforestry systems (AFS) by ESI-FT-ICR MS and portable NIR associated with sensory analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 94, p. 103637, 1 dez. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157520313429>. Acesso em: 5 ago. 2022.

DAVIS, A. P. *et al.* High extinction risk for wild coffee species and implications for coffee sector sustainability. **Science Advances**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. eaav3473, 18 jan. 2019. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aav3473>. Acesso em: 25 out. 2021.

DOCUMET-PETRLIK, K. *et al.* Calidad organoléptica del café bajo el efecto de la Roya Amarilla (*Hemileia vastatrix*) en Alto Shamboyacu - Lamas. **Revista Agrotecnológica Amazónica**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. e260–e260, 20 jan. 2022. Disponível em: <http://209.45.90.234/index.php/raa/article/view/260>. Acesso em: 15 jan. 2023.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 118, n. 3, p. 851–855, fev. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609006840>. Acesso em: 15 jan. 2023.

DUARTE, S. M. da S. *et al.* Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 387–393, jun. 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000200035&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 28 out. 2021.

FERRÃO, R. G. *et al.* **Conilon Coffee**. [S. l.]: Vitória, ES: Incaper, 2019., 2019. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/123456789/3514>. Acesso em: 25 out. 2021.

FERRÃO, R. G. *et al.* Diamante ES 8112 , ES 8122 Jequitibá e 'Centenária ES 8132': novas cultivares clonais de café Conilon com qualidade de bebida para o Espírito Santo. Accepted: 2015-06-30T14:32:07Z, 30 jun. 2015. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/item/808>. Acesso em: 5 ago. 2022.

FRANÇA, A. C. *et al.* Teores de nutrientes em cultivares de café arábica submetidos à deriva de glifosato. **Planta Daninha**, [S. l.], v. 28, p. 877–885, dez. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/pd/a/6DyrpBy7dxLzRMjzd5QjXKb/?lang=pt>. Acesso em: 15 jan. 2023.

FREEDMAN, N. D. *et al.* Association of Coffee Drinking with Total and Cause-Specific Mortality. **The New England journal of medicine**, [S. l.], v. 366, n. 20, p. 1891–1904, 17 maio 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3439152/>. Acesso em: 25 ago. 2022.

FREITAS, A. F. de *et al.* Productivity and beverage sensory quality of arabica coffee intercropped with timber species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S. l.],

v. 55, 6 jan. 2021. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/pab/a/pgff78vGsmGr9NrZZSF4bHx/abstract/?lang=en>. Acesso em: 14 jan. 2023.

GAJAHIN GAMAGE, N. T. *et al.* Proteomic Applications in Aquatic Environment Studies. **Proteomes**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 32, set. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-7382/10/3/32>. Acesso em: 16 jan. 2023.

GOMES, L. C. *et al.* Agroforestry systems can mitigate the impacts of climate change on coffee production: A spatially explicit assessment in Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [S. l.], v. 294, p. 106858, jun. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167880920300438>. Acesso em: 21 dez. 2022.

GÓRECKI, M.; HALLMANN, E. The Antioxidant Content of Coffee and Its In Vitro Activity as an Effect of Its Production Method and Roasting and Brewing Time. **Antioxidants**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 308, abr. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/4/308>. Acesso em: 15 jan. 2023.

GRACIANO, P. D. *et al.* Estádios de maturação de cultivares de *Coffea arabica* l. em monte carmelô-mg e suas características sensoriais. **Revista Ciência Agrícola**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 7–14, 25 jul. 2019. Disponível em: <https://www.seer.ufal.br/index.php/revistacienciaagricola/article/view/5608>. Acesso em: 15 jan. 2023.

GUEDES, F. A. de F. *et al.* Transcriptional memory contributes to drought tolerance in coffee (*Coffea canephora*) plants. **Environmental and Experimental Botany**, [S. l.], v. 147, p. 220–233, 1 mar. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847217303106>. Acesso em: 15 jan. 2023.

GUERRA-GUIMARÃES, L. *et al.* Proteomic analysis of apoplastic fluid of *Coffea arabica* leaves highlights novel biomarkers for resistance against *Hemileia vastatrix*. **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 6, 2015. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2015.00478>. Acesso em: 26 jan. 2022.

HAMEED, A. *et al.* Farm to Consumer: Factors Affecting the Organoleptic Characteristics of Coffee. II: Postharvest Processing Factors. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 1184–1237, 2018.

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12365>. Acesso em: 14 jan. 2023.

ICO. International Coffee Organization - What's New. 2019. Disponível em: <https://www.ico.org/>. Acesso em: 13 jan. 2023.

JANDA, K. *et al.* Mineral Composition and Antioxidant Potential of Coffee Beverages Depending on the Brewing Method. **Foods**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 121, 23 jan. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/2/121>. Acesso em: 28 out. 2021.

KAUR, B. *et al.* Omics for the Improvement of Abiotic, Biotic, and Agronomic Traits in Major Cereal Crops: Applications, Challenges, and Prospects. **Plants**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. 1989, out. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/10/1989>. Acesso em: 16 jan. 2023.

KAZAMA, E. H. *et al.* Methodology for selective coffee harvesting in management zones of yield and maturation. **Precision Agriculture**, [S. l.], v. 22, n. 3, p. 711–733, jun. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s11119-020-09751-1>. Acesso em: 27 out. 2021.

KLEINWÄCHTER, M.; SELMAR, D. Influence of drying on the content of sugars in wet processed green Arabica coffees. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 119, n. 2, p. 500–504, 15 mar. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609008577>. Acesso em: 13 out. 2022.

KNOPP, S.; BYTOF, G.; SELMAR, D. Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. **European Food Research and Technology**, [S. l.], v. 223, n. 2, p. 195–201, jun. 2006. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-005-0172-1>. Acesso em: 13 out. 2022.

LEMOS, M. F. *et al.* Chlorogenic acid and caffeine contents and anti-inflammatory and antioxidant activities of green beans of conilon and arabica coffees harvested with different degrees of maturation. **Journal of Saudi Chemical Society**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 101467, maio 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319610322000497>. Acesso em: 2 jul. 2022.

LIU, S. *et al.* Proteomics and glycoproteomics of beer and wine. **PROTEOMICS**, [S. l.], v. 22, n. 15–16, p. 2100329, 2022. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pmic.202100329>. Acesso em: 16 jan. 2023.

LIVRAMENTO, K. G. do *et al.* Proteomic analysis of coffee grains exposed to different drying process. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 221, p. 1874–1882, 15 abr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461631696X>. Acesso em: 9 out. 2021.

MANNA, S. *et al.* A proteomic profile of the healthy human placenta. **Clinical Proteomics**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 1, 2 jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12014-022-09388-4>. Acesso em: 16 jan. 2023.

MÁRQUEZ, F. R. *et al.* Relationship between soil characteristics and altitude with the sensory quality of coffee grown under agroforestry systems in Cusco, Peru. **Scientia Agropecuaria**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 529–536, 2020. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20210035156>. Acesso em: 14 jan. 2023.

MARRACCINI, P. *et al.* Differentially expressed genes and proteins upon drought acclimation in tolerant and sensitive genotypes of *Coffea canephora*. **Journal of Experimental Botany**, [S. l.], v. 63, n. 11, p. 4191–4212, 2012.

MORI, A. L. B. *et al.* Perfil sensorial de bebidas de café conilon do Estado do Espírito Santo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S. l.], v. 53, p. 1061–1069, set. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/pab/a/mJcfYV8g5Zq9xCNGg79HYKP/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 16 jan. 2023.

NARITA, Y.; INOUE, K. Chlorogenic Acids from Coffee. **Coffee in Health and Disease Prevention**. [S. l.]: Elsevier, 2015. p. 189–199. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095175000218>. Acesso em: 28 out. 2021.

NGUYEN DINH, S. *et al.* Abiotic stresses affect differently the intron splicing and expression of chloroplast genes in coffee plants (*Coffea arabica*) and rice (*Oryza sativa*). **Journal of Plant Physiology**, [S. l.], v. 201, p. 85–94, 20 ago. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161716301249>. Acesso em: 7 dez. 2022.

NOHARA-SHITAMA, Y. *et al.* Habitual coffee intake reduces all-cause mortality by decreasing heart rate. **Heart and Vessels**, [S. l.], v. 34, n. 11, p. 1823–1829, nov. 2019. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00380-019-01422-0>. Acesso em: 25 ago. 2022.

PATRÍCIO, D. I.; RIEDER, R. Computer vision and artificial intelligence in precision agriculture for grain crops: A systematic review. **Computers and Electronics in Agriculture**, [S. l.], v. 153, p. 69–81, out. 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168169918305829>. Acesso em: 3 out. 2021.

PEREIRA, S. P. *et al.* Crescimento vegetativo e produção de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) recepados em duas épocas, conduzidos em espaçamentos crescentes. **Ciência e Agrotecnologia**, [S. l.], v. 31, p. 643–649, jun. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/cagro/a/WjS5j9KPjBk6BSVpfcKSKPG/?lang=pt>. Acesso em: 15 jan. 2023.

RENDÓN, M. Y.; DE JESUS GARCIA SALVA, T.; BRAGAGNOLO, N. Impact of chemical changes on the sensory characteristics of coffee beans during storage. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 147, p. 279–286, 15 mar. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613013885>. Acesso em: 9 jan. 2023.

RIBEIRO, L. S. *et al.* Controlled fermentation of semi-dry coffee (*Coffea arabica*) using starter cultures: A sensory perspective. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 82, p. 32–38, set. 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643817302281>. Acesso em: 15 jan. 2023.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y. Foodomics: Current and Future Perspectives in Food Analysis. **Foods**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 1238, jan. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/9/1238>. Acesso em: 16 jan. 2023.

SCOSSA, F.; ALSEEKH, S.; FERNIE, A. R. Integrating multi-omics data for crop improvement. **Journal of Plant Physiology**, [S. l.], v. 257, p. 153352, fev. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S017616172030242X>. Acesso em: 23 maio 2022.

SILVA, S. A. da *et al.* Determination of heavy metals in the roasted and ground coffee beans and brew. **African Journal of Agricultural Research**, Citation Key: silva2017, v. 12, n. 4, p. 221–228, 26 jan. 2017. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/121000162513>. Acesso em: 5 mar. 2024.

SITTIPOD, S. *et al.* Identification of flavor modulating compounds that positively impact coffee quality. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 301, p. 125250, dez. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619313597>. Acesso em: 16 jan. 2023.

SOUZA, C. A. *et al.* Genotype-environment interaction for the sensory profile of *Coffea arabica* lines in high temperature regions in the Western Amazon. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 20, n. 2, 2021. Disponível em: http://www.funpecrp.com.br/gmr/articles/year2021/vol20-2/pdf/gmr18809_-genotype-environment-interaction-sensory-profile-coffea-arabica-lines-high-temperature.pdf. Acesso em: 16 jan. 2023.

STAVRINIDES, A. K. *et al.* Seed comparative genomics in three coffee species identify desiccation tolerance mechanisms in intermediate seeds. **Journal of Experimental Botany**, [S. l.], v. 71, n. 4, p. 1418–1433, 19 fev. 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/jxb/article/71/4/1418/5625986>. Acesso em: 16 jan. 2023.

TOLEDO-HERNÁNDEZ, M. *et al.* Genome-edited tree crops: mind the socioeconomic implementation gap. **Trends in Ecology & Evolution**, Citation Key: toledoherandez2021, v. 36, n. 11, p. 972–975, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169534721002251>.

USDA. Brazil: Coffee Annual | USDA Foreign Agricultural Service. 8 jun. 2022a. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/brazil-coffee-annual-7>. Acesso em: 26 mar. 2024.

USDA. Colombia: Coffee Annual | USDA Foreign Agricultural Service. 2 jun. 2022b. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/colombia-coffee-annual-6>. Acesso em: 26 mar. 2024.

USDA. Ethiopia: Coffee Annual | USDA Foreign Agricultural Service. 9 set. 2022c. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/ethiopia-coffee-annual-7>. Acesso em: 26 mar. 2024.

USDA. Indonesia: Coffee Annual | USDA Foreign Agricultural Service. 19 maio 2022d. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/indonesia-coffee-annual-6>. Acesso em: 26 mar. 2024.

USDA. Vietnam: Coffee Annual | USDA Foreign Agricultural Service. 24 maio 2023. Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/vietnam-coffee-annual-8>. Acesso em: 26 mar. 2024.

VADDADI, S.; PARVATAM, G. Impacts of biotic and abiotic stress on major quality attributing metabolites of coffee beans. **Journal of Environmental Biology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 377–382, mar. 2015.

YAMAKAWA, M. *et al.* Associations between coffee consumption and all-cause and cause-specific mortality in a Japanese city: the Takayama study. **Public Health Nutrition**, [S. l.], v. 22, n. 14, p. 2561–2568, out. 2019.

YEAGER, S. E. *et al.* Acids in coffee: A review of sensory measurements and meta-analysis of chemical composition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 0, n. 0, p. 1–27, 23 set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1957767>. Acesso em: 1 nov. 2021.