

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMUTAGÊNICA *IN VITRO* E *IN VIVO* DA
BEBIDA DO CAFÉ**

STELLA MARIS DA SILVEIRA DUARTE

2004

STELLA MARIŞ DA SILVEIRA DUARTE

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMUTAGÊNICA *IN VITRO* E *IN VIVO* DA BEBIDA DO CAFÉ

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientadora

Profa. Dra. Celeste Maria Patto de Abreu

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2004**

STELLA MARIS DA SILVEIRA DUARTE

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMUTAGÊNICA *IN VITRO* E *IN VIVO* DA BEBIDA DO CAFÉ

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 07 de dezembro de 2004

Profa. Dra. Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa **EFOA/CEUFE**

Profa. Dra. Rosemary Gualberto F. A. Pereira **UFLA**

Prof. Dr. Evódio Ribeiro Vilela **UFLA**

Prof. Dr. Marcelo Henrique dos Santos **EFOA/CEUFE**



Profa. Dra. Celeste Maria Patto de Abreu

UFLA

(Orientadora)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

“Nada te perturbe, nada te assuste, tudo passa.
Deus, porém, não muda; com a paciência tudo se alcança.
Quem a Deus possui nada lhe falta, só Deus basta”
(Santa Teresa D’Avila)

A Deus,

DEDICO

À memória de meu pai, José Silvestre.

À minha mãe, Maria do Rosário, meu esposo, Osvaldo e
aos meus filhos, Guilherme e Marina, pela paciência e
carinho,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Celeste Maria Patto de Abreu, minha orientadora e amiga, pela orientação serena, pela confiança, pelos momentos de reflexão e pelo exemplo, pessoal e profissional. Expresso aqui o meu mais profundo reconhecimento.

À professora Dra. Cibeli Marli Cação Paiva Gouvêa, minha co-orientadora e amiga. Agradecer-lhe seria pouco, diante de tão grande generosidade, paciência, incentivo e contribuição inestimável às idéias contidas neste trabalho. Deixo aqui a minha sincera gratidão.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de realização do curso.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, especialmente a Prof. Dra. Rosemary Gualberto F. A. Pereira, pela formação acadêmica que me proporcionaram.

À Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas – Centro Universitário Federal – EFOA/CEUFE, professores e funcionários do Departamento de Análises Clínicas, por sempre apoiar e incentivar a realização deste sonho.

Ao PICDT/CAPES, pelo apoio financeiro, fundamental para a viabilização deste estudo.

À professora Dra. Fernanda, amiga e parceira desta jornada, com quem compartilhei as minhas responsabilidades técnicas, durante a realização deste trabalho. Fernanda, pela sua bondade e presteza, meus sinceros agradecimentos.

Aos meus amigos e professores Selmo de Ávila Lima e Maria Rita Rodrigues, pelo apoio, cooperação, solidariedade e incentivo constantes.

Às funcionárias e amigas: Marilúcia, Eliana e Lucinda, cujo trabalho, às vezes anônimo, se concretiza em oportunidades como esta.

Ao saudoso Prof. Dr. José Renan Vieira da Costa, meu amigo e responsável pelo incentivo e confiança, suportes essenciais para a realização de mais esta jornada, meu eterno agradecimento, pois sei que só Deus pode reconhecer toda a grandeza de sua alma.

Aos meus colegas de doutorado, Luiz Carlos e Nelma, pela amizade e cumplicidade.

Aos professores Alessandra, Sandra, Denise, Terezinha, Lira, Magali, Olinda, Marcelo Henrique e a todos que, de maneira direta ou indireta, nos auxiliaram e permitiram a conclusão deste trabalho, que Deus lhes pague.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Produção e consumo do café no mundo	3
2.2 O café no Brasil	4
2.3 Descrição e classificação botânica do café	5
2.4 Composição química	5
2.5 Vias de preparo	12
2.6 Torração e alterações do café.....	13
2.7 Moagem	16
2.8 Preparo da bebida	17
2.9 Oxidações biológicas	17
2.10 Peroxidação lipídica	19
2.11 Avaliação da atividade antioxidante	23
2.12 Proteção antioxidante	25
2.13 Café e oxidações biológicas	27
2.14 Mutagenicidade.....	29
2.15 Café e mutagenicidade	31
2.16 Café e parâmetros bioquímicos e hematológicos.....	38
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 Matéria-prima	41
3.2 Processamento da matéria-prima	41
3.3 Preparo da amostra	41
3.4 Métodos e análises	42

3.4.1	Análise de cor	42
3.4.2	Preparo da bebida	42
3.4.3	Determinação do pH	42
3.4.4	Determinação do teor de polifenóis	43
3.4.5	Análise de sólidos solúveis totais	43
3.4.6	Determinação da concentração dos ácidos cafeoilquínico (CQA)	43
3.4.7	Avaliação do poder redutor	44
3.4.8	Avaliação da atividade quelante de metais (Fe^{2+})	45
3.4.9	Avaliação da atividade seqüestrante de radicais livres	45
3.4.10	Determinação da atividade de guaiacol-peroxidase in vitro	45
3.4.11	Determinação da inibição da peroxidação de lipídeos in vitro	46
3.4.12	Determinação da inibição da peroxidação de lipídeos in vivo	48
3.4.13	Determinação da concentração de proteínas	48
3.4.14	Determinação parâmetros bioquímicos e hematológicos	48
3.4.15	Teste do micronúcleo de eritrócitos de medula óssea de rato	49
3.5	Delineamento experimental	50
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	Análise de cor	53
4.2	pH	54
4.3	Polifenóis	55
4.4	Sólidos solúveis totais	56
4.5	Concentração dos ácidos cafeoilquínico (CQA)	57
4.6	Poder redutor (PR)	60
4.7	Poder quelante de metais	61
4.8	Atividade seqüestrante de radicais livres	62
4.9	Atividade de guaiacol-peroxidase in vitro	64
4.10	Inibição da peroxidação de lipídeos in vitro	67
4.11	Inibição da peroxidação de lipídeos in vivo	69

4.12	Parâmetros bioquímicos	70
4.13	Parâmetros hematológicos	73
4.14	Teste do micronúcleo de eritrócitos de medula óssea de rato	74
4.15	Parâmetros hematológicos em relação à ciclofosfamida	77
4.16	Considerações gerais	78
5	CONCLUSÕES	80
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
	ANEXO	68

RESUMO

DUARTE, Stella Maris da Silveira. **Atividade antioxidante e antimutagênica *in vitro* e *in vivo* da bebida do café.** Lavras: UFLA, 2004. 118p. (Tese - Doutorado em Ciência dos Alimentos)

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito antioxidante e antimutagênico da bebida do café descascado e natural, em três graus de torração. Em todos os experimentos foi utilizado café do mesmo lote e bebida preparada no momento do uso, seguindo a mesma metodologia. Foram determinadas a cor, a composição de ácidos cafeoilquínicos, o pH, o teor de polifenóis e os sólidos solúveis das bebidas. Foram realizados testes para avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*. Os testes determinaram o poder redutor, o poder quelante de metais, a atividade seqüestrante de radicais livres, a inibição da peroxidase e inibição da peroxidação lipídica *in vitro* e *in vivo*. Os parâmetros bioquímicos e hematológicos foram analisados após a ingestão da bebida de café, bem como a atividade antimutagênica, por meio do teste do micronúcleo. A análise de cor revelou que o café em dois tipos de processamento, apresentou a mesma cor no mesmo grau de torração. Houve diminuição da concentração de ácidos cafeoilquínicos e polifenóis e aumento de pH com o grau de torração. A bebida de café apresentou alto poder redutor, com pequena diminuição com o grau de torração. Todas as bebidas apresentaram poder quelante de Fe^{2+} , que diminuiu com o grau de torração. A atividade seqüestrante de radicais livres aumentou com a torração, sendo comparável à do BHT e menor que do ácido gálico e ácido ascórbico. As bebidas de café apresentaram atividade inibidora da guaicol-peroxidase, que diminuiu com a intensidade da torração e mostrou-se concentração-dependente. Houve diminuição da peroxidação lipídica *in vitro* e *in vivo*. A bebida administrada por 7 e 30 dias inibiu significativamente a peroxidação lipídica ($p < 0,01$), quando comparada ao controle. A ingestão por 30 dias de doses moderadas da bebida de café filtrada não produziu modificação significativa no nível plasmático dos parâmetros bioquímicos e hematológicos analisados. A ingestão da bebida de café reduziu a incidência de micronúcleos e a genotoxicidade da ciclofosfamida. Isto permite sugerir que a ingestão moderada da bebida de café filtrada pode ter

*Comitê Orientador: Dra. Celeste Maria Patto de Abreu (orientadora), Dra. Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa, Dra. Rosemary Gualberto F.A.Pereira.

efeito benéfico, por apresentar atividade antioxidante, não interferir nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos e apresentar atividade antimutagênica em ratos.

ABSTRACT

DUARTE, Stella Maris da Silveira. *In vitro* and *in vivo* antioxidant and antimutagenic activity of coffee brew. Lavras: UFLA, 2004. 118p. (Thesis - Doctorate in Food Science)

The aim of this study was to verify the antioxidant and antimutagenic effect of peeled and natural coffee brew in three roasted levels. In all the experiments coffee of the same batch and brew prepared on the moment of the use, following the same methodology was utilized. The color, the composition of cafeoilquinic acids, pH, the content of polyphenols and soluble solids of the brews were determined. *In vitro* and *in vivo* antioxidant tests were carried out. The tests determined the reducing substances, metal chelating activity, free radicals scavenging activity, peroxidase inhibition, *in vitro* and *in vivo* lipid peroxidation inhibition. The biochemical and hematological parameters were analyzed after coffee brews ingestion, as well as antimutagenic activity, by means of the micronucleus test. The color analysis revealed that the two types of processed coffee presented the same color at the same roasted level. There was decrease in the concentration of cafeoilquinic acids and polyphenols and increase of pH with roasting degree. The coffee brew presented a high reducing power, with a slight decrease with roasting degree. All the brews presented Fe^{2+} chelating activity, which decreased with roasting degree. The free radical scavenging activity increased with roasting, its being comparable to that of BHT and lower than that of galic acid and ascorbic acid activity. The coffee brews presented activity inhibiting guaiacol-peroxidase, which decreased with roasting intensity and proved concentration-dependent. There was a decrease of *in vitro* and *in vivo* lipid peroxidation. The brew administered for 7 and 30 days inhibited significantly lipid peroxidation ($p < 0.01$), as compared with the control. Ingestion for 30 days of moderate doses of the filtered coffee brew did not significantly modified plasma levels of the analyzed biochemical and hematological parameters. Ingestion of coffee brew reduced the incidence of micronucleus and of genotoxicity of cyclophosphamide. That enables to suggest that the moderate ingestion of the filtered coffee brew may have a beneficial

* Guidance Committee: Dra. Celeste Maria Patto de Abreu (Major Professor), Dra. Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa, Dra. Rosemary Gualberto F.A.Pereira.

effect for presenting antioxidant activity, not interfering in the serum cholesterol and triglyceride levels and presenting antimutagenic activity in rats.