

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA
CAMPUS JARAGUÁ DO SUL**

**FELIPE ALEXANDRE
HOBERDHA GRÉGORY MARCELINO
KELLY CHRISTINE PAULA DA ROSA
LUCAS GRÜTZMACHER
MAYARA CAMARGO CANTOVICK
MATHEUS FELIPPE GREGOL PEREIRA**

**ABORDAGEM QUANTITATIVA E CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO
NICOTÍNICO (VITAMINA B3) EM CAFÉ COMERCIALIZADO NA
REGIÃO DE JARAGUÁ DO SUL - SC**

Jaraguá do Sul

2018

FELIPE ALEXANDRE
HOBERDHA GRÉGORY MARCELINO
KELLY CHRISTINE PAULA DA ROSA
LUCAS GRÜTZMACHER
MAYARA CAMARGO CANTOVICK
MATHEUS FELIPPE GREGOL PEREIRA

**ABORDAGEM QUANTITATIVA E CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO
NICOTÍNICO (VITAMINA B3) EM CAFÉ COMERCIALIZADO NA
REGIÃO DE JARAGUÁ DO SUL - SC**

Projeto de pesquisa desenvolvido no eixo formativo diversificado “Conectando Saberes” do curso Técnico em Química (Modalidade Integrado) do Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Jaraguá do Sul.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Paula Centurião

Jaraguá do Sul

2018

SUMÁRIO

1 TEMA	3
2 DELIMITAÇÃO DO TEMA	3
3 PROBLEMA	3
4 HIPÓTESES	3
5 OBJETIVOS	4
5.1 Objetivo geral	4
5.2 Objetivos específicos	4
6 JUSTIFICATIVA	4
7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
7.1 Café	5
7.1.1 O Café no Brasil	5
7.2 A Importância do Café na saúde	6
7.3 Trigonelina	7
7.3.1 Desmetilação da Trigonelina	8
7.4 Ácido Nicotínico	9
7.4.1 Vitamina B3	9
7.4.2.1 <i>Forma Ácida e Amida</i>	10
7.4.2 Ácido Nicotínico no Café	12
8 METODOLOGIA	14
8.1 Espectrofotometria UV-VIS	14
8.1.1 Preparação das Amostras	15
8.2 Espectroscopia no Infravermelho	18
8.2.1 Preparação das Amostras	18
8.3 Gestão de Resíduos	18
8.4 Equipamentos de proteção individual (EPI's)	19
9 CRONOGRAMA	19
REFERÊNCIAS	19

1 TEMA

Quantificação e caracterização de ácido nicotínico em amostras de café comercial.

2 DELIMITAÇÃO DO TEMA

O presente projeto pretende analisar e determinar a quantidade de ácido nicotínico, forma ácida da vitamina B3, em amostras de café comercial distribuído em supermercados locais de duas torras diferentes, em forma de pó e filtrado através das metodologias de espectrofotometria no Ultravioleta - visível (UV-VIS) e espectroscopia no infravermelho (IV).

3 PROBLEMA

Consequente do processo de torrefação do grão, o ácido nicotínico é a principal vitamina encontrada no café (LIMA, 2002), com conhecida importância na saúde e na nutrição (SILVA; MURA, 2016). No entanto, a legislação brasileira não delimita parâmetros para as quantidades do composto em questão, sendo este um valor que pode variar conforme os processos de produção adotados por cada produtor (ROSA, 2010). Não se sabe o quanto ou se há de fato uma alteração na quantidade de ácido nicotínico quando o pó comercializado passa pelo processo de filtração para o preparo tradicional da bebida que é efetivamente consumida.

4 HIPÓTESES

- Há uma quantidade significativa de ácido nicotínico no café comercializado?
- Há variação da quantidade do composto em questão nos diferentes processos de torra (tradicional e extra forte) adotados pela indústria?
- Há uma quantidade ligeiramente menor de ácido nicotínico no café filtrado?

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Quantificar o ácido nicotínico em café comercial em pó e filtrado de diferentes torras disponíveis no mercado, utilizando o método de espectrofotometria no UV-VIS.

5.2 Objetivos específicos

- Quantificar o ácido nicotínico presente no café em pó e filtrado com dois métodos distintos de torra - tradicional e extra forte - a partir da espectrofotometria UV-VIS.
- Confirmar a presença do ácido nicotínico a partir da análise da espectroscopia no IV.
- Validar a análise em UV-VIS através da verificação da presença de ácido nicotínico em espectroscopia no IV.

6 JUSTIFICATIVA

O Brasil é o maior produtor e exportador do café, assim como o segundo maior consumidor deste produto mundialmente. No ano de 2016, sua exportação representou cerca de 9,8% de todas as exportações brasileiras. Estima-se que o parque cafeeiro ocupe 2,2 milhões de hectares divididos entre cerca de 287 mil produtores (BRASIL; 2017).

Sendo uma bebida amplamente consumida e de importância significativa na economia nacional, justifica-se assim o seu estudo. A cafeína é o alcalóide que se encontra em maior quantidade no café, sendo o mais estudado e conhecido. Deste modo, é interessante analisarmos outros compostos presentes na bebida final: os produtos formados da desmetilação da trigonelina - outro importante alcalóide do café. O processo de desmetilação é decorrente da torrefação do grão, formando, entre outros, o composto ácido nicotínico (ou niacina, forma ácida da vitamina B3) (TAVARES, FERREIRA; 2006), considerado a principal vitamina no café em aspectos nutritivos (CARVALHO, 1963). Não há dados que apresentem a variação da quantidade desta vitamina do café em pó torrado para o café filtrado que é consumido - se esta variação existir -

buscando-se assim realizar tal quantificação e validá-la através da verificação por espectroscopia no IV.

Os métodos de análise mais comuns do ácido nicotínico são a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e espectroscopia no IV. No entanto, a primeira se mostra fora de acesso para o grupo, enquanto esta última é uma análise de natureza qualitativa, sendo que o grupo propõe uma abordagem quantitativa. Deste modo, observou-se em literatura a viabilidade do uso de espectrofotometria UV-VIS para quantificação de diversos compostos em alimentos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008 & SILVA; OLIVEIRA, 2015), entre eles o ácido nicotínico em grãos de café, foco do nosso estudo.

7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

7.1 Café

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo: rico em cafeína, ácido nicotínico (Vitamina B3), e sais minerais, tornando-o uma bebida funcional; e é o segundo maior mercado mundial de produtos naturais depois do petróleo (ENCARNAÇÃO, LIMA; 2003). O consumo moderado de café, entre 70 e 700 mg -que corresponde de 3 a 12 xícaras por dia- pode trazer vários benefícios à saúde, como melhora da concentração, melhor desempenho no desenvolvimento de tarefas simples, o tempo de retenção visual, diminuição do cansaço e sonolência, além de ajudar a prevenir doenças como Parkinson, depressão e cálculos renais (ENCARNAÇÃO; LIMA, 2003). Porém, o consumo exagerado da bebida aumenta o ritmo cardíaco e pode causar transtorno mental temporário, síndrome de abstinências, úlcera, gastrite, hipertensão; e em doses muito elevadas de 2.000 à 14.000 mg, equivalente a 118 xícaras diárias- pode ser letal (SALDAÑA, 1997).

7.1.1 O Café no Brasil

O café foi trazido da Guiana Francesa ao Brasil pelo Sargento-Mor Francisco de Mello Palheta em 1727. As primeiras sementes foram plantadas em Belém do Pará (SOBRINHO,

1978) que devido às condições climáticas se adaptou bem ao ambiente, criando interesse em grandes proprietários (ROSA, 2010). Em pouco tempo o café se desenvolveu, ocupando grande espaço na economia nacional, de tal maneira que em 1831 as vendas externas de café contribuíram significativamente para o pagamento da dívida externa brasileira. Atualmente o Brasil é responsável por um terço da produção mundial.

Nas primeiras décadas do século XIX, o Brasil dominou o cenário mundial respondendo em média por 70% da produção. Atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de café, sendo responsável por 30% do mercado internacional, suas áreas cafeeiras estão concentradas principalmente nos estados de: Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná (ROSA, 2010).

Graças ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, o Brasil também possui liderança absoluta de conhecimento cafeeiro (ENCARNAÇÃO e LIMA, 2003).

As primeiras sementes percorreram Maranhão, Rio de Janeiro até o Sul, onde se formou o primeiro cafezal na periferia da corte. Após receber várias sementes de rubiácea (família ao qual o café pertence), D. João VI distribuiu em pacotes para os proprietários de terras no sul. Com o incentivo de D. João, essa região concedeu um grande progresso ao Brasil, produzindo mais do que outros países cafeeiros (SOBRINHO, 1978).

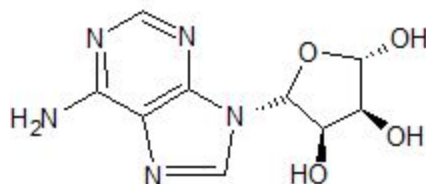
7.2 A Importância do Café na saúde

Ao beber uma quantidade moderada de café, é notável alguns efeitos psicoativos logo após o seu consumo. O indivíduo fica mais alerta e disposto, tende a prestar mais atenção, possui uma maior concentração e tem maior facilidade para realizar suas tarefas (ENCARNAÇÃO; LIMA, 2003).

Em nosso cérebro há adenosina (figura 1), molécula responsável por inibir -de forma controlada- neurotransmissores presentes no sistema nervoso, que agem no cérebro de forma cognitiva, deixando o indivíduo mais alerta e disposto (LIMA, 2002; AGUIAR *et al*, 2012) Ao ser ingerido, a cafeína presente na bebida, por se assimilar estruturalmente com a adenosina, se conecta com os seus receptores, impedindo que ela realize sua função de inibir os neurotransmissores estimulantes, resultando nos efeitos psicoativos citados acima (ALVES;

CASAL; OLIVEIRA, 2009). Abaixo está representado a fórmula em linha da adenosina, molécula inibidora dos neurotransmissores estimulantes.

Figura 1. Fórmula estrutural da adenosina



Fonte: Adaptado de ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009.

Outro benefício do café é sua relação inversa com a depressão. Foi comprovado que o uso de café ajuda no tratamento e na prevenção da depressão; entretanto, não se sabe ao certo qual composto no café é responsável por tal efeito (GODOY; GONÇALVES; MORAES, 2012). Acredita-se que a harmana e a nor-harmana, duas β - carbonilas, constituídas durante o processo de torra do café, na reação entre indoletilaminas e compostos carbonílicos, estejam relacionadas a isso. Ambas atuam inibindo a monoaminoxidase A, responsável por impedir o excesso de moléculas neurotransmissoras - como a dopamina, a noradrenalina e a serotonina, que atuam no cérebro deixando o indivíduo alegre e de bom-humor (REIS; PERON; VICENTINI, 2001; SANTOS, 2013; CESAR; MORETTI; MIOTO, 2013). Esta inibição permite que os neurotransmissores se acumulem na fenda sináptica e tenham uma interação mais forte com os seus receptores no cérebro, resultando em uma melhora do humor e das emoções (HENRIZ; CHAPARRO, 2006 *apud* ALVES; CASAL; OLIVEIRA, 2009; ABRAAHÃO *et al*, 2008; ARRUDA *et al*, 2009).

7.3 Trigonelina

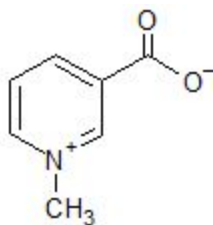
A trigonelina é um alcalóide presente no grãos do café, precursora do ácido nicotínico, agindo principalmente na secreção da bile e no sistema nervoso central (SALDAÑA, 1997). A molécula está tendo sua importância notoriamente estabelecida devido às descobertas das

propriedades sensoriais e nutricionais dos produtos provenientes de sua desmetilação, resultante do processo de torra do produto (café) em que é encontrada (ROSA, 2010).

Caracteriza-se como uma das substâncias bioativas de maior importância no café (LICCIARDI *et al*, 2005 *apud* ABRAHÃO *et al*, 2008), uma vez que, a partir de sua degradação térmica -ocasionada pelo processo industrial de torrefação-, há a formação dos compostos aromáticos pirróis e piridina, assim como o ácido nicotínico (ROSA, 2010).

Por esse processo de degradação característico, o café é um dos únicos alimentos que tem um aumento em seu valor nutricional após ser submetido a um processo térmico (DE MARIA *et al*, 1999; CASAL *et al*, 2000 *apud* ABRAHÃO, 2008). Sua fórmula estrutural em linha é representada abaixo:

Figura 2. Fórmula estrutural da Trigonelina.



Fonte: Adaptado de SALDAÑA, 1997.

7.3.1 Desmetilação da Trigonelina

Quando submetida a temperaturas elevadas, a trigonelina sofre o processo de decomposição térmica (VIANI, HORMAN; 1974 *apud* TAGUCHI, SAKAGUCHI, SHIMABAYASHI; 1985), sendo o ácido nicotínico o produto deste fenômeno que mais nos interessa neste estudo. Sua formação se dá pela desmetilação da molécula de trigonelina (VIANI, HORMAN; 1974 *apud* SALDAÑA, 1997) no processo de torra ao qual o café para consumo é sujeito.

O processo de desmetilação, especificamente, se dá apenas acima de 160°C (HUGHES, SMITH *apud* SALDAÑA, 1997). Na indústria, após serem armazenados, os grãos verdes de café

A vitamina B3 é componente de coenzimas relacionadas às enzimas respiratórias e vasodilatadoras (LIN; HUDSON, 1996 apud MENEZES, 2008), necessária para a circulação adequada e pele saudável. Dentre as fontes de vitamina B3 na alimentação, destacam-se as carnes magras, peixes, aves, trigo integral e o café (Bontempo, 1997; Hendler, 1997 apud GARIB, 2002) - foco do nosso estudo.

De forma geral, sua participação no metabolismo se dá nos mecanismos de oxidação celular. Também intervém no aproveitamento normal das proteínas pelo organismo, influencia o metabolismo do enxofre e tem sido usada como agente farmacológico, possibilitando o metabolismo das gorduras, carboidratos e proteínas.

Ela atua no funcionamento do sistema nervoso, nas funções cerebrais e na produção de ácido clorídrico para o sistema digestivo, além de ser eficaz no tratamento da esquizofrenia e outras doenças mentais (LIN; HUDSON, 1996 apud MENEZES, 2008). Também ajuda a prevenir e aliviar a dor de cabeça provocada por enxaqueca, reduz a pressão sanguínea e protege o fígado. (MENEZES, 2008).

7.4.2.1 Forma Ácida e Amida

A vitamina B3 existe na forma ácida (ácido nicotínico ou niacina) e na forma de amida (nicotinamida, niacinamida ou vitamina PP) (INFINITY PHARMA, 2017). Ambas as formas são estáveis ao oxigênio atmosférico, luz e calor em estado seco e solução aquosa (PAUL, 1969 apud GREENFIELD, SOUTHGATE, 2003). Em sua forma ácida, como ocorre no café, apresenta várias funções, entre as quais podemos citar:

- Ação vasodilatadora e anti-hiperlipidêmica¹;
- Prevenção e tratamento da pelagra²;

¹ Hiperlipidemia é uma condição na qual há elevadas taxas de colesterol no sangue, sendo colesterol um tipo de lipídio (University of California, Davis, s/d.).

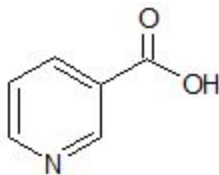
² Pelagra é uma doença decorrente da deficiência celular de niacina e da suplementação dietética e inadequada de niacina e triptofano. As populações mais atingidas são: alcoolistas crônicos, portadores de doença gastrointestinal e de distúrbios psiquiátricos severos. (FILGUEIRAS *et al*, 2011). Em casos mais graves caracteriza-se como demência, sendo que as crianças acometidas pelas doenças demonstram, ainda, apatia e depressão (NÓBREGA, 1998 apud GARIB, 2002).

- Uso como terapia adjuvante em pacientes com hiperlipidemia e em associação com outros vasodilatadores.

Na infância, a carência de substâncias como ácido fólico, tiamina, riboflavina e, entre elas o ácido nicotínico, é comum. (NÓBREGA, 1998 *apud* GARIB, 2002). A deficiência leve de ácido nicotínico pode retardar o metabolismo e causar dores de cabeça entre outros sintomas menores, mas a deficiência severa causa pelagra, doença caracterizada por diarreia, demência, inflamação da boca e língua, dermatite e outras doenças da pele, assim como outros sintomas que podem ser fatais se a doença não for tratada (LAWRENCE, 2015).

O consumo de ácido nicotínico também reduz os níveis de colesterol, mas está associado a diversos efeitos colaterais: suplementos vitamínicos contêm nicotinamida, pois o ácido nicotínico produz uma liberação de histamina de mastócitos da face e nariz, causando um quadro semelhante à rinite alérgica. (MENEZES, 2008).

Figura 4. Fórmula em linha de ácido nicotínico (niacina).



Fonte: Adaptado de SALDAÑA, 1997.

Já a nicotinamida, em forma de amida, não apresenta atividade anti-hiperlipidêmica e tampouco vasodilatadora, portanto não apresenta os efeitos adversos decorrentes da vasodilatação; entretanto é indicada na profilaxia e tratamento da pelagra, assim como o ácido nicotínico (INFINITY PHARMA, 2017).

7.4.2 Ácido Nicotínico no Café

Apesar da notoriedade que a cafeína recebe, o café contém uma série de outras substâncias também importantes para o organismo humano (Trugo, 1984; Lima, 1995; Flores *et al.*, 2000 *apud* ENCARNAÇÃO; LIMA, 2003).

Juntamente com os sais minerais, lipídios, açúcares, aminoácidos e ácidos clorogênicos, encontra-se no café o ácido nicotínico. De um ponto de vista nutricional, todos esses componentes fazem do café uma bebida saudável, superando em valor nutricional as bebidas isotônicas, refrigerantes e a própria água mineral; apesar do consumo e preço da bebida serem bem menores, uma vez que no Brasil o consumo de refrigerantes é superior a 10 bilhões de litros por ano, enquanto o consumo de café atinge cerca de 7 bilhões de litros, ou seja, 70% desse consumo (ENCARNAÇÃO, LIMA; 2003).

Além da niacina, as vitaminas tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, colina, ácido fólico, fator citrovarum, vitamina B6 e vitamina B12 -todas do complexo B- foram encontradas no café em grão. Estas, porém, apresentam-se em níveis muito baixos em relação às necessidades nutritivas humanas, tornando, assim, o ácido nicotínico a principal vitamina do café (CARVALHO, 1963).

Quanto a isso, a relevância nutricional da substância na bebida consumida é reconhecida: O consumo *per capita* de café torrado anualmente no Brasil é de 4,90 kg (ABIC, 2015), o que corresponde a aproximadamente 13,425 g diários. De acordo com dados bibliográficos, são encontrados aproximadamente 20 mg de trigonelina em 100 g de café (ROSA, 2010), ou seja, a niacina é responsável por 0,0002% de sua massa total. Deste modo, a ingestão de 13,425 g de café torrado diariamente no Brasil - como visto anteriormente - representa um consumo de 2,685 mg de ácido nicotínico decorrente do café por dia. A ingestão diária recomendada de ácido nicotínico é em média de 16 mg (ANVISA, 2005); sendo assim, estima-se que o brasileiro supre, através do consumo médio de café, 16,78% de suas necessidades diárias de ácido nicotínico.

Na tabela a seguir podemos verificar a ingestão diária recomendada da vitamina B3 em sua forma ácida. Há variação na quantidade de miligramas diários para cada faixa etária indicada na tabela, assim como entre os sexos biológicos e de gestantes, lactantes e lactentes.

Tabela: Quantidade recomendada de ingestão de Niacina em mg/dia.

Estágios da Vida	Niacina (mg/dia)
Lactentes	
0 a 6 meses	2
7 a 12 meses	4
Crianças	
1 a 3 anos	6
4 a 8 anos	8
Homens	
9 a 13 anos	12
>14 anos	16
Mulheres	
9 a 13 anos	12
>14 anos	14
Gestantes	
<19 anos	18
Lactantes	
19 a 50 anos	17

Fonte: Adaptado de Silva; Mura, 2016.

Entre os diversos benefícios que os compostos do café podem oferecer, vistos anteriormente, o ácido nicotínico especificamente com outros compostos do café pode proteger os dentes da deterioração. Análises laboratoriais indicam que o ácido clorogênico, o ácido nicotínico e a trigonelina impediram que as bactérias *Streptococcus mutans* se instalassem em superfícies dentárias, devido às suas propriedades anti-bactericida e anti-adesiva (Pruzzo, 2002; Daglia *et al.*, 2002 *apud* ENCARNAÇÃO; LIMA, 2003). A partir disso, surgiu a hipótese de que essas substâncias podem prevenir a formação de cáries dentárias.

8 METODOLOGIA

Para a realização da pesquisa, o método escolhido pelo grupo é a espectrofotometria UV-VIS, a fim de quantificar o ácido nicotínico presente nas quatro amostras de café comercial tradicional e extra forte (tipo torrado e moído) em pó e filtrado, de marca escolhida pelo critério de maior disponibilidade ao grupo.

8.1 Espectrofotometria UV-VIS

Este método analítico consiste em submeter as amostras a um feixe de radiação eletromagnética na região do Ultravioleta/visível (SILVA; OLIVEIRA, 2015). A radiação UV/vis é absorvida por algumas moléculas através do fenômeno de excitação eletrônica. O processo se dá entre níveis de energia definidos, pois os elétrons absorvem energia apenas quando esta promove sua passagem para um nível mais energético. Assim, os elétrons de diferentes moléculas absorvem quantidades diferentes e definidas de energia da radiação que incidem sobre sua estrutura (SASSAKI, 2010).

Esse fenômeno torna possível a quantificação de compostos moleculares através da Lei de Lambert-Beer, que descreve:

$$\mathbf{A = E. b. c}$$

Onde **A** é o grau de absorbância da amostra, **E** é chamado coeficiente de absorção (característico do soluto), **b** é o caminho óptico e **c** é a concentração da amostra (SASSAKI, 2010).

8.1.1 Preparação das Amostras

A preparação de amostras seguirá a indicada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Para cada uma das amostras, será necessário o preparo das seguintes soluções:

- Solução-estoque de ácido nicotínico: 50 mg de ácido nicotínico padrão de referência - previamente seco e guardado no escuro em dessecador sobre pentóxido de fósforo - dissolvido em álcool 25% até 500 mL.
- Solução-padrão I de ácido nicotínico a 10 µg /mL: 10 mL da solução-estoque de ácido nicotínico diluído até 100 mL com água deionizada.
- Solução-padrão II de ácido nicotínico a 4µg /mL: 2 mL da solução-estoque de ácido nicotínico diluído até 50 mL com água deionizada.
- Solução de hidróxido de amônio diluído: 5 mL de hidróxido de amônio (NH₄OH) diluído a 250 mL com água deionizada.
- Solução de ácido clorídrico (HCl) diluído: 1 mL de ácido clorídrico diluído em 5 mL de água deionizada.
- Solução-tampão de fosfato (pH = 8): 60 g de hidrogenofosfato de sódio (Na₂HPO₄) e 10 g de didrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄) dissolvidos e diluídos até 200 mL com água deionizada em temperatura morna.
- Solução saturada de bromo: 25 g de bromo (Br) diluídos com 284 mL de água deionizada fria na capela química.
- Solução de bromocianogênio a 10%: Numa bureta, em capela química, a solução de cianeto de potássio (KCN) a 5% será adicionada em 30 mL da solução saturada de bromo num frasco Erlenmeyer de 250 mL até desaparecimento da cor amarela.

- Solução de ácido sulfanílico a 10%: Numa bureta, será adicionado o hidróxido de amônio (NH_4OH) a uma mistura de 20 g de ácido sulfanílico ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$) e 170 mL de água, até que o ácido sulfanílico se dissolva. Após, o pH será ajustado a 4,5 com ácido clorídrico, usando papel indicador universal de pH. Adicionaremos água até chegar em 200 mL.

Para cada amostra (dos quatro tipos indicados anteriormente no item 8) utilizaremos 28,35 g do café, em Erlenmeyer, onde serão adicionados 200 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) em concentração de 0,05 M. Em autoclave, a amostra será misturada e aquecida por 30 minutos sob 15 libras de pressão (1,02069 atm) e, após esfriar, terá seu pH corrigido para 4,5 com hidróxido de sódio 10 M. Ela será diluída até 250 ml com água destilada e, em seguida, filtrada. Será pipetado 40 mL da solução da amostra num balão de 50 mL com 17 g de sulfato de amônio, completado com água, agitado e filtrado a vácuo.

Em outro balão de 50 mL, será pesado 17 g de sulfato de amônio, adicionado 40 mL da solução-padrão II (4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e diluído com água deionizada até 50 mL, contendo 3,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ácido nicotínico neste padrão. O padrão será feito para fins comparativos na análise.

Depois, a fim de realizar a leitura no espectrofotômetro UV-VIS, serão preparadas quatro soluções³:

- Branco do padrão:
 - 5,0 mL de água;
 - 0,5 mL de hidróxido de amônio diluído;
 - 2,0 mL de ácido sulfanílico a 10%;
 - 0,5 mL de ácido clorídrico diluído.
- Solução-padrão:
 - 1,0 mL da solução-padrão;
 - 5,0 mL de bromocianogênio;

³ A solução de bromocianogênio será adicionada à de ácido sulfanílico com pipetas automáticas, em capela, devido à toxicidade dos componentes (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

- 0,5 mL de hidróxido de amônio diluído;
 - 2,0 mL de ácido sulfanílico a 10%;
 - 0,5 mL de água.
- Branco da amostra:
 - 1,0 mL da solução da amostra;
 - 5,0 mL de água;
 - 0,5 mL de hidróxido de amônio diluído;
 - 2,0 mL de ácido sulfanílico a 10%;
 - 0,5 mL de ácido clorídrico diluído.
- Solução da amostra:
 - 1,0 mL da solução da amostra;
 - 5,0 mL de bromocianogênio;
 - 0,5 mL de hidróxido de amônio diluído;
 - 2,0 mL de ácido sulfanílico a 10%;
 - 0,5 mL água.

Cada amostra que será analisada terá um branco. A solução-padrão e a solução da amostra serão pipetadas em seus respectivos tubos (para branco do padrão ou branco da amostra, haverá a adição de água). Todas as soluções subsequentes serão adicionadas em um só tubo, sendo feita a leitura da cor antes de passar para o próximo, iniciando-se com o branco padrão e a solução-padrão. Logo após, o tubo será agitado e homogeneizado em vortex, haverá a adição de ácido sulfanílico e será novamente agitado. De forma imediata, ocorrerá a adição de 0,5 mL de ácido clorídrico diluído e será misturado. O zero de absorção do espectrofotômetro será ajustado com o branco, e utilizando o comprimento de onda em 450 nm, após 30 segundos será adicionado o ácido sulfanílico, que permanecerá por no máximo 2 minutos.

A leitura da absorvância será feita para cada amostra com o seu respectivo branco, sendo a concentração de ácido nicotínico proporcional à absorção se o padrão e a solução da amostra tiverem aproximadamente a mesma concentração.

8.2 Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho consiste numa técnica de análise de substâncias baseada nas propriedades das ligações e seus reflexos na absorção da radiação eletromagnética na região do IV (comprimento de ondas na faixa de 2,5 μm a 15 μm), que corresponde a região do espectro eletromagnético que envolve comprimentos de ondas maiores que aquelas da região visível, que vão de 400 a 800 nm (PAVIA *et al*, 2010).

A análise consiste na aplicação da radiação eletromagnética na região do IV com diferentes comprimentos de ondas, as quais são absorvidas pela amostra as frequências correspondentes às vibrações específicas das ligações de sua molécula, que fazem com que aumente a amplitude do movimento vibracional de suas ligações. Com base na detecção da absorção da radiação pela amostra nas diferentes frequências, é gerado um espectro que reflete na presença de seus grupos funcionais. (PAVIA *et al*, 2010).

8.2.1 Preparação das Amostras

Para a análise, a amostra será misturada com brometo de potássio (KBr) em pó e prensada sob uma alta pressão. A mistura resultará numa pastilha de brometo de potássio que pode ser inserida no espectrômetro de infravermelho e que não absorve as ondas na região do infravermelho até 400 cm^{-1} , não interferindo na análise.

8.3 Gestão de Resíduos

O grupo seguirá as normas de segurança do laboratório, e quando necessário, durante a execução da metodologia, serão utilizadas luvas e máscaras. Os resíduos gerados durante as análises serão devidamente gerenciados: em caso de resíduos inorgânicos ácidos, serão

neutralizados com cal viva em pó (CaO) até seu pH se aproximar de 7,0, quando poderão ser descartadas na pia. Em caso de resíduos inorgânicos básicos, o pH será corrigido com substâncias ácidas disponíveis no laboratório e serão descartados na pia. Em caso de resíduos orgânicos, descartaremos em galões de resíduos orgânicos presentes em laboratório.

8.4 Equipamentos de proteção individual (EPI's)

Para a realização da metodologia serão necessários os seguintes EPI's: Luvas de látex; luvas térmicas; máscara.

9 CRONOGRAMA

	Ago 2018	Set 2018	Out 2018	Nov 2018	Dez 2018
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	
Análises laboratoriais	X	X	X		
Análise e comparação dos resultados	X	X	X		
Escrita do relatório da pesquisa	X	X	X	X	
Elaboração do banner				X	
Entrega do relatório final				X	
Apresentação final				X	

REFERÊNCIAS

ABIC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ. **Indicadores da Indústria**. 2015. Disponível em:

<<http://abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-2015/>>. Acesso em: 18 abr. 2018.

ABRAHÃO, Sheila Andrade; PEREIRA, Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga; LIMA, Adriene Ribeiro; FERREIRA, Eric Batista; MALTA, Marcelo Ribeiro. Compostos Bioativos Em Café Integral e Descafeinado e Qualidade Sensorial da Bebida. **Pesq. agropec. bras**, Brasília, v. 43, n. 2, p. 1799-1804, dez. 2008. Disponível em:

<<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/1261/5594>> Acesso em: 15 mai. 2018.

AGUIAR, Rafael Alves de; TURNES, Tiago; CARDOSO, Thiago Elpídio; VASCONCELLOS, Diego Itibere Cunha; CAPUTO, Fabrizio. Efeito da ingestão de cafeína em diferentes tarefas de tempo de reação. **Rev. Bras. Ciênc. Esporte**, Florianópolis, v. 34, n. 2, p. 465-476, abr./jun. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbce/v34n2/a15v34n2>>. Acesso em: 10 jun. 2018.

ALVES, Rita C.; CASAL, Susana; OLIVEIRA, Beatriz. BENEFÍCIOS DO CAFÉ NA SAÚDE: MITO OU REALIDADE? **Química Nova**, Porto, v. 32, n. 8, p. 2169-2180, 22 set. 2009.

Disponível em:

<https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/41264407/Benefcios_do_caf_na_sade_mit_o_ou_realida20160116-15874-9agqml.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1528642847&Signature=aVapeZCY/V1ACSD0YfkrkUCOmo=&response-content-disposition=inline;filename=Benefcios_do_cafe_na_saude_mito_ou_real.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2018.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005**. 2005. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3>. Acesso em: 01 abr. 2018.

ARRUDA, Aline Cristina; MINIM, Valéria Paula Rodrigues; FERREIRA, Marco Aurélio Marques; MINIM, Luis Antonio; SILVA, Neuza Maria da; SOARES, Cláudio Furtado. Justificativas e motivações do consumo e não consumo de café. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(4), p. 754-763, out./dez. 2009. Disponível em:

<<http://www.redalyc.org/html/3959/395940098009/>> Acesso em: 10 jun. 2018.

BASSETTO, Priscilla; SANTO, Regiane Silva do Espírito. Processo produtivo do café torrado e moído. In: X EEPA - Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial, 10., 2016, Campo

Mourão. **Anais...** Campo Mourão: Unespar, 2016. p. 1 - 8. Disponível em: <http://www.fecilcam.br/anais/x_eepa/data/uploads/11-agroindustria/11-01.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Café no Brasil**. 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafes/cafecultura-brasileira>>. Acesso em: 18 abr. 2018.

CARVALHO. Observações preliminares sobre a variabilidade da niacina em linhagens de café. **Bragantia**, Campinas, v. 22, n. único, 1963. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v22nunico/36.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2018.

CÉSAR, Luiz Antonio Machado; MORETTI, Miguel Antonio; MIOTO, Bruno Mahler. Pesquisas comprovam benefícios do café à saúde humana. **Visão Agrícola**, n.12, p. 112-114, jan./jul. 2013. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va12-qualidade-da-bebida03.pdf>> Acesso em: 10 jun. 2018.

ENCARNAÇÃO, Ronaldo de Oliveira; LIMA, Darcy Roberto. **Café e saúde humana**. 1. ed. Brasília: Embrapa café. 2003. Disponível em: <<http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/3383>>. Acesso em: 16 abr. 2018.

FILGUEIRAS, Fernanda de Marca *et al.* Lipomatose simétrica benigna e pelagra associados ao alcoolismo. **An Brasil Dermatol**. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abd/v86n6/v86n6a21.pdf>> Acesso em: 17 mai. 2018.

GARIB, Carolina Costa. **Alimentação balanceada: uma proposta alternativa para merenda escolar**. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/83787/192690.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 03 jun. 2018.

GODOY, Hállyfe Rodrigues Venâncio; GONÇALVES, Fernanda Borges; MORAES, Clayton Franco. Associação de cafeína ao paracetamol no tratamento da dor. **Revista de Medicina e Saúde de Brasília**, Brasília, 1(3), p. 169-173, 2012. Disponível em: <<https://portalrevistas.ucb.br/index.php/rmsbr/article/view/3438/2218>> Acesso em: 10 jun. 2018.

GREENFIELD, H.; SOUTHGATE, D.A.T. **Datos de composición de alimentos**: obtención, gestión y utilización. 2 ed. Roma: Organización das Nações Unidas para a Alimentação e a

Agricultura, INFOODS. 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-y4705s.pdf>> Acesso em: 17 mai. 2018.

INFINITY PHARMA. **Niacina ou ácido nicotínico**: vitamina B3 na forma ácida. 2017. Disponível em: <<https://infinitypharma.com.br/uploads/insumos/pdf/n/niacina.pdf>>. Acesso em: 12 abr. 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenado por ZENEBON, Odair; PASCUET, Neus Sadocco; TIGLEA, Paulo. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em 09 jun. 2018.

LAWRENCE, Paul. **Niacin (Vitamin B₃) - A review of analytical methods for use in food**. Government Chemist Programme Report, National Measurement Office, Reino Unido, 2015. Disponível em: <https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/409990/Niacin_review-FINAL_06032015.pdf> Acesso em: 20 mai. 2018.

LIMA, Darcy Roberto. **O café pode ser bom para a saúde**. *In*: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 1., 2000, Poço de Caldas, 2002. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/538/166699_Art09f.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 21 abr. 2018.

MENEZES, Vivian Machado de. **Nanotubos de carbono interagindo com vitaminas B3 e C: um estudo de primeiros princípios**. Dissertação (Mestrado em Física) - Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008. Disponível em: <<http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/9182/VIVIAN%20MENEZES.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 17 mai. 2018.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R. **INTRODUÇÃO A ESPECTROSCOPIA**. 4. ed. Bellingham, Washington: Cengage Learning, 389 p. 2010.

REIS, Marli Santos dos; PERON, Ana Paula; VICENTINI, Verônica Elisa Pimenta. **Ação do café e da cafeína no organismo**. Arq. Apadec, 5(2), p. 21-27, jul./dez. 2001. Disponível em: <<http://ojs.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/17505>> Acesso em: 10 jun. 2018.

ROSA, Gabriel Marques. **Análise química e atividade antioxidante de quatro amostras de café (*Coffea arabica*) comerciais**. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010. Disponível em:

<http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5842/Dissertacao_Gabriel%20Marques%20Rosa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 18 abr. 2018.

SALDAÑA, Marleny Doris Aranda. **Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico dos grãos de café com CO₂ supercrítico**. Tese (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/267507/1/ArandaSaldana_MarlenyDoris_M.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2018.

SANTOS, Lucas Nunes. **Café e cafeína: uma abordagem contextualizada e interdisciplinar**. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2013. Disponível em: <<http://bdm.unb.br/handle/10483/6005>> Acesso em: 10 jun. 2018.

SASSAKI, Kikue Takebayashi. **ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO: PRINCÍPIOS GERAIS**. 2010. Foa-unesp.. Disponível em: <<http://www.foa.unesp.br/include/arquivos/foa/dpto/files/espectrofotometria-de-absorcao.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2018.

SILVA, Sandra M. Chemin S. da; MURA, Joana D´arc Pereira. **Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia**. 3. ed. São Paulo: Editora Payá, 2016. 1308 p.

SILVA, Cristina Soares da; OLIVEIRA, Ketelen Michele Guilherme de. **Análise e Quantificação de Vitamina B em Frutas Através do Espectrofotômetro Vis/Uv**. Universidade Estadual do Paraná/ Departamento de Ciências Biológicas, Paranavaí, PR. 2015. Disponível em: <<http://www.eaic.uem.br/eaic2015/anais/artigos/412.pdf>>. Acesso em: 26 de mai. 2018.

SOBRINHO, Alves Motta. **A civilização do café**. São Paulo: Editora Brasiliense. 1978. Disponível em: <https://digital.bbm.usp.br/bitstream/bbm/7038/1/45000009390_Output.o.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2018.

TAGUCHI, Hiroshi; SAKAGUCHI, Muneto; SHIMABAYASHI, Yoshihide. **Trigonelline Content in Coffee Beans and the Thermal Conversion of Trigonelline into Nicotinic Acid during the Roasting of Coffee Beans**. Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Mie University, Tsu, Japão, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00021369.1985.10867295>> . Acesso em: 14 abr. 2018.

TAVARES, Leila Aley; FERREIRA, Antonio Gilberto. Análises quali- e quantitativas de cafés comerciais via ressonância magnética nuclear. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, sept./oct.

2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000500005>> . Acesso em: 01 abr. 2018.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA, Davis. **Hyperlipidemia**. Davis, s/d. Disponível em: <<https://shcs.ucdavis.edu/topics/hyperlipidemia>>. Acesso em: 03 jun. 2018.