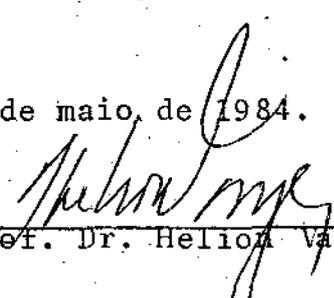


Este exemplar corresponde a redação final da Tese defendida pelo aluno Roberto Miyahara e aprovada pela Comissão Julgadora.

Campinas, 18 de maio de 1984.


Prof. Dr. Helion Vargas

"APLICAÇÕES DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
NUCLEAR E RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA
ELETRÔNICA AO ESTUDO DE ALGUNS EFEI
TOS DA ÁGUA NO CAFÉ ARÁBICA"

Roberto Miyahara

Orientador : Prof. Dr. Helion Vargas

Tese apresentada no Instituto de Física "Gleb Wataghin" da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

maio/1984.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Ressonância Magnética e Fotoacústica da Universidade Estadual de Campinas, sob a orientação do Professor Doutor Helion Vargas e no laboratório de preparação de amostras do Instituto Brasileiro do Café de Campinas.

Ao pessoal do grupo e aos funcionários do Instituto os meus agradecimentos.

Ao IBC, em especial ao Dr. Guilherme, Dra. Ângela e ao Sr. Camargo pelo apoio e pelas valiosas discussões, a minha eterna gratidão.

A FAPESP agradeço o suporte financeiro mantido durante o decorrer do trabalho.

Ao pessoal do desenho que adiantou em muito o andamento da tese (CC., G.G., V.V.) os meus agradecimentos.

Agradeço também aos Profs. Drs. César Augusto por Deus Évora, Edson Corrêa da Silva e Aderbal Carlos de Oliveira. O primeiro por me mostrar o caminho e os dois últimos pelas várias discussões e elucidações a respeito da tese.

Em particular, externo aqui meus agradecimentos ao meu orientador PROFESSOR DOUTOR HELION VARGAS que através de sua experiência e capacidade tornou possível o meu amadurecimento científico e a conclusão desta tese.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	3
1.1 - Introdução	3
1.2 - Ressonância Magnética	3
1.2.1 - Uso Específico em Ressonância Magnética Nuclear	9
1.2.2 - Uso Específico em Ressonância Paramagnética Eletrônica	10
CAPÍTULO II	
EQUIPAMENTOS E METODOLOGIA	
2.1 - Na Técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica	11
2.1.1 - Espectrômetro	11
a) Funcionamento	11
b) Especificações Técnicas do Magneto	13
c) Especificações Técnicas e Funcionamento do Gerador de Microondas	13
d) Sistema de Detecção	14
2.1.2 - Cálculo da Concentração de Radicais Paramagnéticos	16
2.1.3 - Cálculo da Energia de Ativação e Fator de Frequência por Processo Isócrono	17
2.1.4 - Cálculo do Fator-g	19
2.1.5 - Preparação de Amostras	21
a) Ação de Luz e Umidade	21
b) Ação de Gases	21
2.2 - Na Técnica de Ressonância Magnética Nuclear	21
2.2.1 - "Espectrômetro"	21
a) Funcionamento	21

b) O Sistema RMN	22
2.2.2 - Calibração de Campo Magnético	24
2.2.3 - Orientação das Amostras	25
2.2.4 - Hidratação	25
a) Para Grão Crú ou Torrado	25
b) Para Café Crú ou Torrado em Pó	28
2.2.5 - Saturação em Potência	28
2.3 - Torrador	28
2.3.1 - Perda de Massa	30
2.4 - Moinho	30
2.5 - O Café	30
CAPÍTULO III	
RESULTADOS EXPERIMENTAIS	
3.1 - Em Ressonância Magnética Nuclear	32
3.1.1.1 - Espectro Característico do Grão Crú de Café	32
3.1.1.2 - Saturação em Potência	35
3.1.1.3 - Hidratação	35
3.1.1.4 - Maturação	42
3.1.2.1 - Espectro Característico do Café Crú Moído	42
3.1.2.2 - Saturação em Potência	46
3.1.2.3 - Hidratação	46
3.1.3.1 - Espectro Característico do Grão de Café Torrado	46
3.1.3.2 - Saturação em Potência	46
3.1.3.3 - Hidratação	46
3.1.4.1 - Espectro Característico do Pó de Café Torrado	54
3.1.4.2 - Saturação em Potência	54
3.1.4.3 - Hidratação	54
3.2 - Em Ressonância Paramagnética Eletrônica	54

3.2.1 - Espectro Característico e Fator-g	62
3.2.2 - Influência do Tempo e da Temperatura de Torra- ção na Criação de Radicais Livres	62
3.2.3 - Perda de Massa por Aquecimento	65
3.2.4 - Energia de Ativação e Fator de Frequência	65
3.2.5 - Influência da Luz, da Atmosfera (ar + ^m umidade) e Gases (N_2 e O_2) sobre os Radicais durante o Armazenamento	65
a) Influência de Luz e Atmosfera (ar + umidade)	69
b) Influência de Gases	69

CAPÍTULO IV

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 - Em RMN	78
a) O Espectro Característico	78
b) Saturação em Potência	78
c) Hidratação	79
d) Maturação	80
4.2 - Em RPE	80
a) Espectro Característico e Fator-g	80
b) Influência do Tempo e da Temperatura de Torra- ção	82
c) Energia de Ativação e Fator de Frequência	83
d) Influência da Luz, da Atmosfera (ar + umidade) e Gases (N_2 e O_2)	83

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5.1 - Conclusões	87
5.2 - Perspectivas	88
REFERÊNCIAS	90

INTRODUÇÃO

A influência da água na conservação de produtos alimentícios é reconhecidamente de grande importância.

A identificação da água no café, seu estado agregacional e conseqüentemente sua atividade em processos orgânicos podem ser obtidos através de várias técnicas espectroscópicas. Em particular, a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) permite a observação direta da mobilidade da água no café, através da detecção dos prótons de hidrogênio. Da mesma forma, a Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) admite, de forma indireta, a obtenção de informação sobre a atividade da água, pela recombinação de radicais livres.

Os radicais livres são criados durante o processo de torração e através deles é possível não só o conhecimento da atividade da água no café torrado, mas também outras informações como a influência de gases e luz sobre eles.

O objetivo deste trabalho é o estudo pela RMN e pela RPE do papel da água e dos gases no café, torrado ou não. Fez-se um estudo exaustivo das linhas de ressonância da água e dos radicais paramagnéticos, cujos resultados permitem, em parte, compreender alguns processos que envolvem as técnicas de armazenamento e torração.

No capítulo I são apresentados fundamentos teóricos para melhor compreensão das técnicas de RMN e RPE.

O capítulo II compreende a descrição do equipamento, as técnicas de preparação de amostras e os métodos de cálcu

lo.

No capítulo III são apresentados os resultados experimentais.

No capítulo IV são discutidos os resultados obtidos no capítulo III.

O capítulo V é constituído das conclusões e perspectivas deste trabalho.

CAPÍTULO I

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 - Introdução

As propriedades das partículas de momento magnético não nulo podem ser investigadas por um fenômeno que é denominado de Ressonância Magnética (2, 3, 4, 5, 6, 12, 13, 26, 27). Este fenômeno é a base das técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).

As espectroscopias da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) serão instrumentos para o estudo do comportamento das amostras sob as condições impostas. Estas técnicas são de grande importância para sistemas biológicos por serem não destrutivas (15, 16, 18, 19, 24).

1.2 - Ressonância Magnética

Uma partícula de momento magnético $\vec{\mu}$, sob a ação de um campo magnético externo \vec{H} sofre um torque $\vec{\tau}$ que provoca o alinhamento do momento $\vec{\mu}$ ao campo \vec{H} .

$$\vec{\tau} = -\vec{\mu} \times \vec{H} \quad (1-1)$$

Classicamente a energia E de um momento magnético $\vec{\mu}$ num campo magnético externo \vec{H} é dado por:

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{H} \quad (1.2)$$

ou

$$E = -\mu H \cos \theta \quad (1.2a)$$

onde θ é o ângulo entre o eixo do momento e a direção do campo. Portanto para cada ângulo tem-se uma energia diferente ($0 < \theta < \pi$).

Contudo, do ponto de vista quântico o número de orientações possíveis é finito. Para uma partícula com momento angular $J \hbar$, existem $(2J + 1)$ orientações possíveis, designados por um número quântico magnético com os valores $M_J = J, J-1, J-2, \dots, -J$. Isto significa que o vetor momento $\vec{\mu}$ não se alinha **exatamente** na direção do campo. O momento $\vec{\mu}$ precessiona em torno do eixo do campo mantendo θ constante (Fig. 1.I). Em termos de momento angular, expressa-se a energia como:

$$E = -g \beta H M_J \quad (1.3)$$

onde g é o fator de Landé, de desdobramento espectroscópico ou simplesmente fator g ($g_e = 2,00 \dots$ para elétrons e $g_p = 5,59 \dots$ para prótons), e β é o magneton de Bohr ($\beta_e = 0,92732 \cdot 10^{-20}$ erg/G para elétrons e $\beta_p = 5,05 \cdot 10^{-24}$ erg/G para núcleos).

A frequência angular de precessão ω é chamada de frequência de Larmor, e é dada por:

$$\omega = g e H / (4 \pi m c) = g \beta H / \hbar = \gamma H \quad (1.4)$$

onde γ é a razão giromagnética, m é a massa da partícula, e e é a carga da partícula, c é a velocidade da luz no vácuo.

Para sistemas de $J = 1/2$, (prótons do hidrogênio em RMN; elétron livre em RPE) a equação (1.3) mostra que apenas dois níveis de energia são permitidos (Fig. 1.II).

No caso de um elétron desemparelhado com o de radi

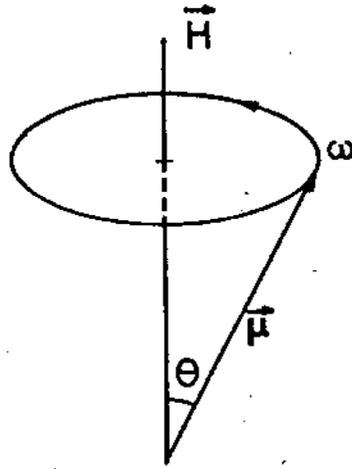


Fig. 1.I - Precessão de Larmor

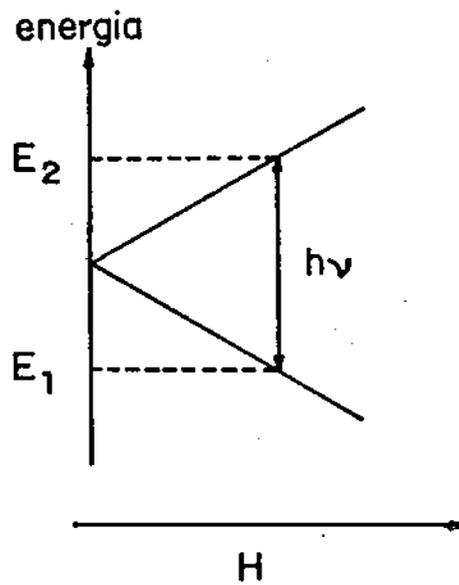


Fig. 1.II - Níveis de energia para sistemas de $J = 1/2$

cais livres, M_j pode assumir os valores $\pm 1/2$. Na ausência de um campo magnético esses dois níveis são degenerados e tem a mesma energia. Entretanto, ao ser aplicado o campo magnético externo, o vetor momento angular do elétron torna-se paralelo ou anti-paralelo com a direção do campo. O estado de energia mais populoso é o de menor energia e nas técnicas de RMN e RPE simplesmente força-se a transição do nível de menor para o de maior energia. Se os níveis em questão são E_1 e E_2 , a energia necessária para produzir uma transição de E_1 para E_2 é:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = g\beta H = h\nu \quad (1.5)$$

sendo $h\nu$ o quantum de energia de frequência ν .

A distribuição populacional entre os estados é dada pela expressão de Maxwell-Boltzmann:

$$(N_2/N_1) = \exp \{ - \Delta E/kT \} \quad (1.6)$$

onde N_2 e N_1 são as populações dos níveis, k é a constante de Boltzmann e T é a temperatura absoluta.

Pelas equações (1.5), (1.6) e visualizando a Fig. (1.II) tem-se que H e T controlam a energia absorvida no processo de transição, então, ao aumentar-se H ou diminuir-se T , ou mesmo variando-se adequadamente esses dois parâmetros aumenta-se a energia necessária para provocar a transição, o que implica na energia detectada ter sua intensidade aumentada, melhorando assim a sensibilidade na detecção. A energia para estimular a transição é fornecida por um campo oscilante $H_1 \perp H$.

Na prática a amostra é sujeita à radiação de rádio

frequência (para RMN) ou microondas (para RPE) que fornece a energia necessária à transição e cuja frequência é mantida fixa enquanto a intensidade do campo magnético (campo externo H) é variada. A ressonância ocorre quando $\omega_1 = \omega$, ω_1 sendo a frequência do campo oscilante H_1 , contudo, se a absorção é contínua, há algum mecanismo que permite a população do nível de energia maior perder energia e ir para o nível de energia menor. Tal mecanismo é conhecido como processo de relaxação, e é medido em termos do "tempo de relaxação".

Uma análise quantitativa pode ser obtida através da susceptibilidade χ_0 , pois esta é proporcional à concentração volumétrica das partículas.

$$\chi_0 = N\mu^2 J(J+1)/(3kT) \quad (1.7)$$

onde N é o número de partículas por volume. A parte absorptiva da susceptibilidade, quando sob a ação de um campo oscilante H_1 , é dada por:

$$\chi'' = \chi_0 \omega T_2 / (2 \cdot \{1 + (\omega_1 - \omega)^2 T_2^2 + \gamma^2 H_1^2 T_1 T_2\}) \quad (1.8)$$

onde T_1 e T_2 são os valores dos tempos de relaxação.

A potência absorvida é:

$$P = 2\omega_1 H_1^2 \chi'' \quad (1.9)$$

Através das equações (1.7), (1.8) e (1.9), a medida da potência absorvida pelas partículas pode determinar a concentração volumétrica das partículas na amostra.

Uma análise sobre os tempos T_1 e T_2 pode ser obti

da através da equação (1.8). Diminuindo a intensidade de H_1 , de modo que o fator de saturação $S = \gamma^2 H_1^2 T_1 T_2$ seja muito menor que a unidade, a susceptibilidade pode ser escrita como:

$$\chi_1'' = \chi_0 \omega T_2 / (2 \cdot \{1 + (\omega_1 - \omega)^2 T_2^2\}) \quad (1.10)$$

Variando ω_1 obtêm-se a curva de absorção que tem a forma Lorentziana. Quando $(\omega_1 - \omega)T_2$ é igual a 1, a susceptibilidade atinge a metade do seu valor máximo. Assim, quando H_1 é pequeno, o valor T_2 pode ser obtido de:

$$\text{Largura de linha à meia altura} = 1/(\pi T_2) \quad (1.11)$$

Na ressonância $\omega_1 = \omega$. Assim escreve-se a susceptibilidade como:

$$\chi_2'' = \chi_0 \omega T_2 / (2 \cdot \{1 + \gamma^2 H_1^2 T_1 T_2\}) \quad (1.12)$$

Aumentando H_1 até que S assume o valor 1, χ_2'' apresentará metade da sua intensidade máxima.

Assim obtêm-se T_1 de:

$$\gamma^2 H_1^2 T_1 T_2 = 1 \quad (1.13)$$

Os tempos de relaxação T_1 e T_2 estão relacionados com a taxa com a qual as partículas ganham ou perdem energia.

T_2 está relacionado com interações de partículas de mesma espécie e T_1 com interações com as vizinhanças.

Medidas para determinar a concentração de

núcleos por absorção de potência são mais comumente utilizados.

Usando o par campo-frequência apropriado, é possível obter a informação a partir da curva de absorção.

Contudo, nem sempre amostras da mesma espécie mostram tempos de relaxação iguais. Esta dificuldade é contornada utilizando a área sob a curva de absorção, isto é, levando em conta não só o efeito das partículas no valor de pico, mas o de todas.

Assim, integrando a equação (1.12) obtém-se:

$$\text{Área} = \chi_0 \omega / (2 \cdot \{ 1 + \gamma^2 H_1^2 T_1 T_2 \}^{1/2}) \quad (1.14)$$

Fazendo $S \ll 1$ na equação (1.14) obtém-se finalmente na ressonância:

$$\text{Área} = \chi_0 \omega / 2 \quad (1.15)$$

Nas seções 1.2.1 e 1.2.2 é colocada a utilização específica desta teoria nas técnicas de RMN e RPE.

Um detalhe experimental deve aqui ser colocado. A aparelhagem utilizada, tanto de RMN como RPE, através do registrador do console, traça o gráfico $dx''/dt \times H$.

1.2.1 - Uso Específico em Ressonância Magnética Nuclear

O fenômeno foi observado pela primeira vez em 1945 por Bloch et al (12) e por Purcell et al (13). Esta técnica compreende a investigação de núcleos, que no caso específico aqui utilizado, são os prótons de hidrogênio.

Aqui, como foi indicado:

$$g = g_p = 5,59 \dots$$

$$\beta = \beta_p = 5,05 \cdot 10^{-24} \text{ erg/G}$$

O campo H utilizado é da ordem de KG e a frequência ν está na faixa de MHz.

Com este método há possibilidade de investigar a quantidade de núcleos e como estão agregados à matriz (café).

1.2.2 - Uso Específico em Ressonância Paramagnética Eletrônica

Foi utilizada pela primeira vez em 1945 por E. Zavoiski.

Esta técnica compreende a investigação de elétrons desemparelhados, que no caso específico aqui utilizado, estão associados à radicais para magnéticos.

Aqui como foi indicado:

$$g = g_e = 2,00\dots$$

$$\beta = 0,92732 \cdot 10^{-20} \text{ erg/G}$$

O campo utilizado é da ordem de KG e a frequência ν está na faixa de GHz (Banda X, 3 cm).

O método permite determinar a quantidade de radicais paramagnéticos existentes na amostra, criados por torração, o cálculo da energia necessária para criação de tais radicais, determinação de taxas de recombinação e outras informações que serão detalhadamente descritas no capítulo II.

CAPÍTULO II

EQUIPAMENTOS E METODOLOGIA

2.1 - Na Técnica de Ressonância Paramagnética Eletrônica2.1.1 - Espectrômetroa) Funcionamento

- Medidas de RPE em banda X foram efetuadas num espectrômetro Varian E-12. A amostra, acondicionada numa cavidade de ressonância recebe a energia gerada pelo Klystron da ponte de microondas. A cavidade utilizada é do tipo retangular de modo de operação H_{102} e fator Q de qualidade mínima igual a 2000 (29).

O sistema seletor (Fig. 2.I) permite a modulação do campo magnético em alta (100 KHz) ou em baixa (10 KHz, 1KHz, 270 Hz ou 35 Hz) frequência.

O campo magnético pode ser variado em módulo. Ao atingir um valor adequado, a RPE pode ser induzida na amostra, ocorrendo então a mudança na proporção entre a energia enviada à cavidade e a energia refletida desde a cavidade. Um cristal detector recebe a energia refletida (modulada na frequência do campo de modulação) através do circulador na ponte (Fig. 2.I).

Numa das unidades de modulação, o sinal (modulado a baixa ou alta frequência) contendo a informação RPE após passar pelo cristal é amplificado e aplicado a uma seção receptora.

Um registrador, cujo eixo X indica a variação do

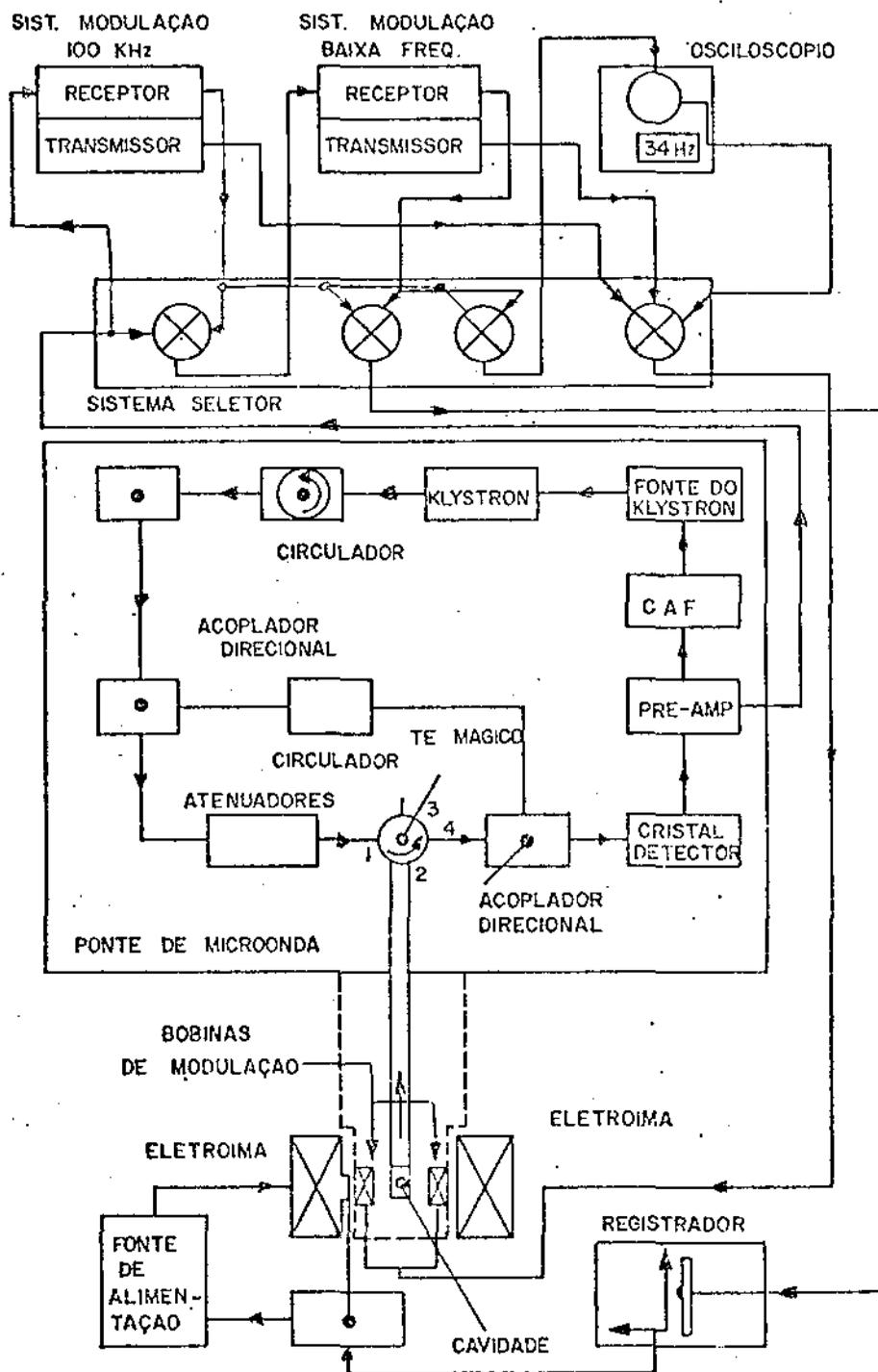


Fig. 2.1 - Diagrama do espectrômetro de RPE

campo magnético controlado por um sensor Hall, recebe no eixo Y, após detecção em fase, o sinal amplificado.

O espectrômetro pode ser visto em diagrama de bloco na Fig. 2.I.

b) Especificações Técnicas do Magneto

- O espectrômetro Varian E-12 atinge um campo máximo de 15 KG através de seu eletromagneto V-7300. A alimentação é fornecida pela fonte V-7700. Operando a 3400 G a homogeneidade do campo é de 15 mG ao longo do volume da amostra,

O console permite a fixação do campo central de 0 a 15 KG com sensibilidade de aproximadamente 0,1 G. Além disso, é possível o controle de intervalos de campo de 200 mG a 10 KG e o seu tempo de varredura de 0,5 minutos até 16 horas. Os módulos acoplados ao console (tanto de alta como de baixa frequência) permitem o ajuste do ganho do receptor e o controle da intensidade do campo de modulação (de 50 mG a 40 G pico a pico).

c) Especificações Técnicas e Funcionamento do Gerador de Microondas.

- A ponte Varian E-101 fornece microondas entre 8,8 e 9,6 GHz para operação em banda X (3 cm) com potência máxima de 200 mW.

O esquema básico dessa fonte é apresentado na Fig. 2.I.

Interior à ponte, o Klystron gera microondas cuja frequência é controlada por variações na voltagem do seu refletor.

Um circulador acoplado à saída do Klystron impede o retorno do sinal. Um circuito nivelador de potência recebe o sinal e regula a sua potência em função da frequência do Klystron. Agora, esta potência de microondas passa por um acoplador direcional, em seguida é atenuada e dirigida à entrada 1 do "Tê-mágico", este transmite o sinal para a cavidade e recebe o sinal refletido. O sinal refletido é então dirigido a um sistema detector e é amplificado.

A Fig. 2.II ilustra o circuito CAF que compensa automaticamente as flutuações em frequência evitando assim ruídos dela provenientes.

A estabilidade em frequência faz-se necessária em vista do fato de que o valor do campo de ressonância dela depende ($h\nu = g\beta H$).

A frequência de microonda é modulada através de um sinal de 70 KHz que é mantida sobre o refletor Klystron no sistema de CAF. Este sinal modulado ao ser aplicado à cavidade é transformado num sinal modulado em amplitude. A potência de microonda resultante é detectada e amplificada por 68 num pré-amplificador e por 6000 no amplificador. Depois é detectado em fase e a voltagem resultante é aplicada ao refletor que contém dois amplificadores. O primeiro é um integrador que retorna a zero a saída do detector, enquanto o segundo aplica uma voltagem de correção proporcional do desvio da frequência, diretamente no refletor do Klystron trazendo de volta a frequência àquela da cavidade.

d) Sistema de Detecção

- O sistema de detecção é homódino e compreende

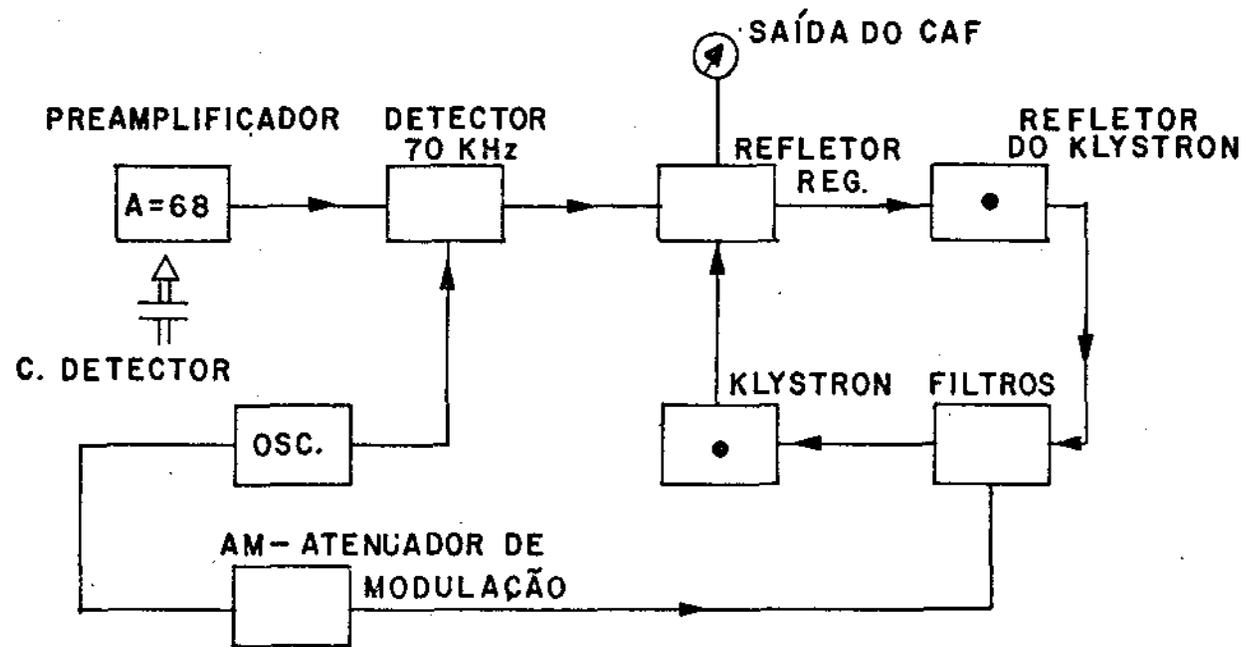


Fig. 2.II - Sistema CAF

um pré-amplificador, um detector síncrono e o registrador X Y.

Um diodo detector provido de um padrão de frequência adaptado a banda X torna possível a detecção.

2.1.2 - Cálculo de Concentração de Radicais Paramagnéticos

Uma amostra padrão de DPPH foi preparada com 935 μg de massa. Como o diphenylpicrylhydrazyl contém 0,95 spins/molécula e sua massa molecular é 394 (30), tem-se $1,53 \cdot 10^{21}$ spins/g. Portanto o padrão contém $1,43 \cdot 10^{18}$ spins.

Utilizando-se um ganho de receptor 8, com todas as outras condições de ajuste sendo padrão para todos os espectros que se necessita saber a concentração, obtém-se uma intensidade "pico a pico" de 96 (unidades arbitrárias).

Aqui cabe ressaltar a validade de se tomar, tanto para o DPPH como para as amostras de café, a intensidade "pico a pico" e não a integral da curva. Como as curvas são pouco largas e não deformadas, a intensidade "pico a pico" é, em boa aproximação, diretamente proporcional à concentração de spins.

Desta forma, pode-se escrever:

$$C = \left\{ \frac{8 \cdot I_{pp}}{G \cdot 96} \right\} \cdot 1,43 \cdot 10^{18} \text{ spins} \quad (2.1)$$

onde C é a concentração (em spins), I_{pp} é a intensidade "pico a pico" da derivada da curva de absorção (em unidades arbitrárias), e G é o ganho do receptor.

2.1.3 - Cálculo da Energia de Ativação e Fator de Frequência por Processo Isócrono

Em processos de criação ou destruição, como o de centros paramagnéticos por torração, pode-se considerar uma expressão do tipo da de Arrhenius (7):

$$K_T = K_0 \cdot \exp \{ - E/(kT) \} \quad (2.2)$$

sendo K um parâmetro dependente da temperatura e ligado a velocidade da reação ou do processo, k a constante de Boltzmann, E a energia de ativação e T a temperatura em graus Kelvin.

A dependência temporal e de temperatura da concentração da espécie em tais processos pode ser expressada como:

$$(dC/dt) = K_T C^\gamma \quad (2.3)$$

onde C é a concentração da espécie, γ é a ordem do processo, t o tempo em segundos.

Integrando a expressão (2.3) para processos de primeira ordem, isto é, $\gamma = 1$ tem-se:

$$C = C_0 \cdot \exp \{ K_T \cdot t \} \quad (2.4)$$

Substituindo a equação (2.2) na equação (2.4) obtém-se:

$$C = C_0 \exp \{ K_0 t \cdot \exp (-E/(kT)) \} \quad (2.5)$$

A concentração de radicais paramagnéticos gerados

por aquecimento a uma dada temperatura T por um tempo t é, em processos de 1ª ordem, dada pela equação (2.5).

Amostras foram preparadas a diferentes temperaturas e tempos.

Medidas das concentrações de radicais paramagnéticos foram obtidos a partir das intensidades "pico a pico" observadas nos espectros RPE. A partir de gráficos da concentração como função do inverso da temperatura obtém-se a energia de ativação e o fator de frequência.

Pela aplicação do logarítmo neperiano à equação (2.5) obtém-se uma equação equivalente:

$$\ln y = \ln (K_0 t) - (E/k) \cdot x \quad (2.6)$$

onde

$$y = \ln C/C_0, \quad x = 1/T$$

Um gráfico em papel mono-log, das variáveis y e x , permite a obtenção da energia de ativação através do coeficiente angular.

Do coeficiente linear obtém-se K_0 . Pode-se então obter o fator de frequência ν_0 a partir da expressão:

$$\nu_0 = \beta E K_0 t / (k T_0^2) \quad (2.7)$$

onde T_0 é a temperatura ambiente ($^{\circ}\text{K}$) e β é o fator de aquecimento ($^{\circ}\text{K/s}$).

2.1.4 - Cálculo do Fator-g

O fator de desdobramento espectroscópico ou fator g é definido pela condição de ressonância (4, 5).

$$h\nu = g \beta H \quad (2.8)$$

onde

h : constante de Planck ($6,625 \cdot 10^{-27}$ erg.s)

ν : frequência (Hz)

g : fator g

β : magneton de Bohr ($0,9273 \cdot 10^{-20}$ erg/G)

H : campo magnético (G)

Em termos de um diagrama de nível de energia (Fig. 2.III), g expressa a proporcionalidade entre o campo magnético e a diferença de energia entre os níveis Zeeman.

A determinação do fator- g , neste caso, é feita a partir da expressão:

$$g = h\nu/(\beta H) = 0,7144 \cdot \nu(\text{GHz})/H(\text{KG}) \quad (2.9)$$

A determinação do campo magnético de ressonância, em cada caso, foi feita com auxílio de uma amostra padrão de DPPH. O valor de frequência é medido através de um frequencímetro.

O desvio é dado por:

$$\Delta g = g \cdot (\Delta\nu/\nu + \Delta H/H) \quad (2.9a)$$

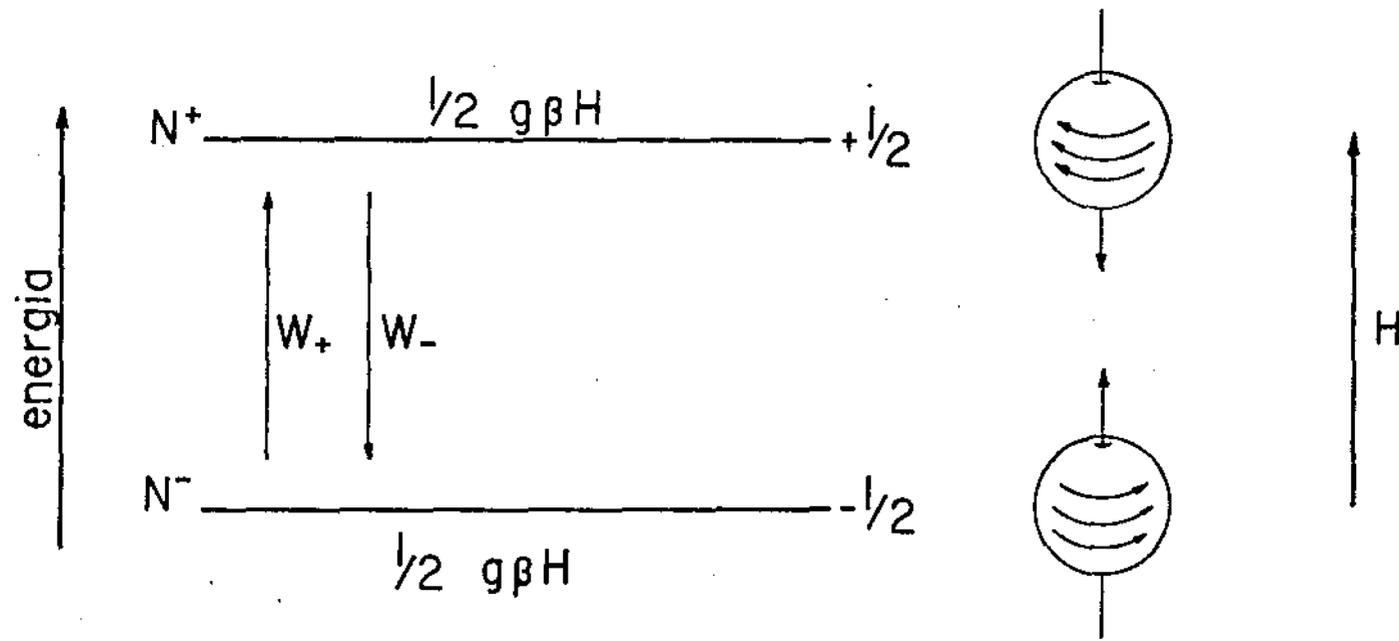


Fig. 2.III - Diagrama de níveis de energia para um sistema simples de spins 1/2 mostrando populações (N), probabilidade de transição (W), e representação esquemática de spins.

2.1.5 - Preparação de Amostras

A descrição abaixo refere-se à maneira como foram preparadas as amostras para o estudo específico a que foram submetidas.

a) Ação de Luz e Umidade

- Amostras após serem torradas e moídas foram acondicionadas em tubos de quartzo.

Evita-se a luz envolvendo o tubo com papel alumínio.

Evita-se a umidade adicional vedando o tubo com cola de silicone.

b) Ação de Gases

- Para o estudo da ação de gases sobre as amostras em função do tempo, foram preparadas amostras colocando-se café torrado e moído em tubos de quartzo.

Simulou-se a atmosfera de N_2 e O_2 sobre as amostras substituindo-se a atmosfera residual dos tubos, pelos gases N_2 e O_2 , colocando-os numa câmara seca, onde um fluxo contínuo desses gases troca a atmosfera dentro do tubo (Ar) pelo gás utilizado (N_2 ou O_2).

2.2 - Na Técnica de Ressonância Magnética Nuclear

2.2.1 - "Espectrômetro"

a) Funcionamento

- Medidas em RMN foram feitas utilizando um "kit"

de RMN de onda contínua. Esse dispositivo é acoplável ao espectrômetro de RPE, Varian E-12. Portanto, toda informação referente ao magneto é a mesma já descrita para o E-12.

O "kit" basicamente é o módulo de rádio-frequência WL-210 da Varian. O intervalo de frequência de operação é de 3 a 35 MHz, com uma sensibilidade de 5:1 (para uma amostra de deutério natural). A potência máxima de saída é de aproximadamente 100 mW com uma estabilidade de $1/10^5$ MHz.

Maiores detalhes nas características técnicas são encontradas no manual de operação do equipamento (11).

b) O Sistema RMN

- O sistema constitui-se do console de controle, o "kit" WL-210 e o magneto com sua respectiva fonte de alimentação. Seu diagrama de blocos é mostrado na Fig. 2.IV.

A ponta de prova trabalha no sistema de bobinas cruzadas. Uma das bobinas irradia a amostra com a RF provinda do transmissor. A bobina de recepção capta o sinal de absorção. Outra bobina modula este sinal e envia ao amplificador do estágio de recepção. Por intermédio de um cristal detector o sinal de absorção é transformado em sinal AC modulado. Daí, este sinal passa respectivamente por: uma unidade de baixa frequência, um amplificador e um detector de fase. Obtém-se então, um sinal DC o qual é proporcional à derivada da curva de absorção de potência e a amplitude de modulação utilizada (isto se a amplitude de modulação for aproximadamente um quarto da largura de linha do espectro, ou menor). Parte do ruído é eliminado por um filtro e finalmente o sinal é aplicado no eixo Y do regis

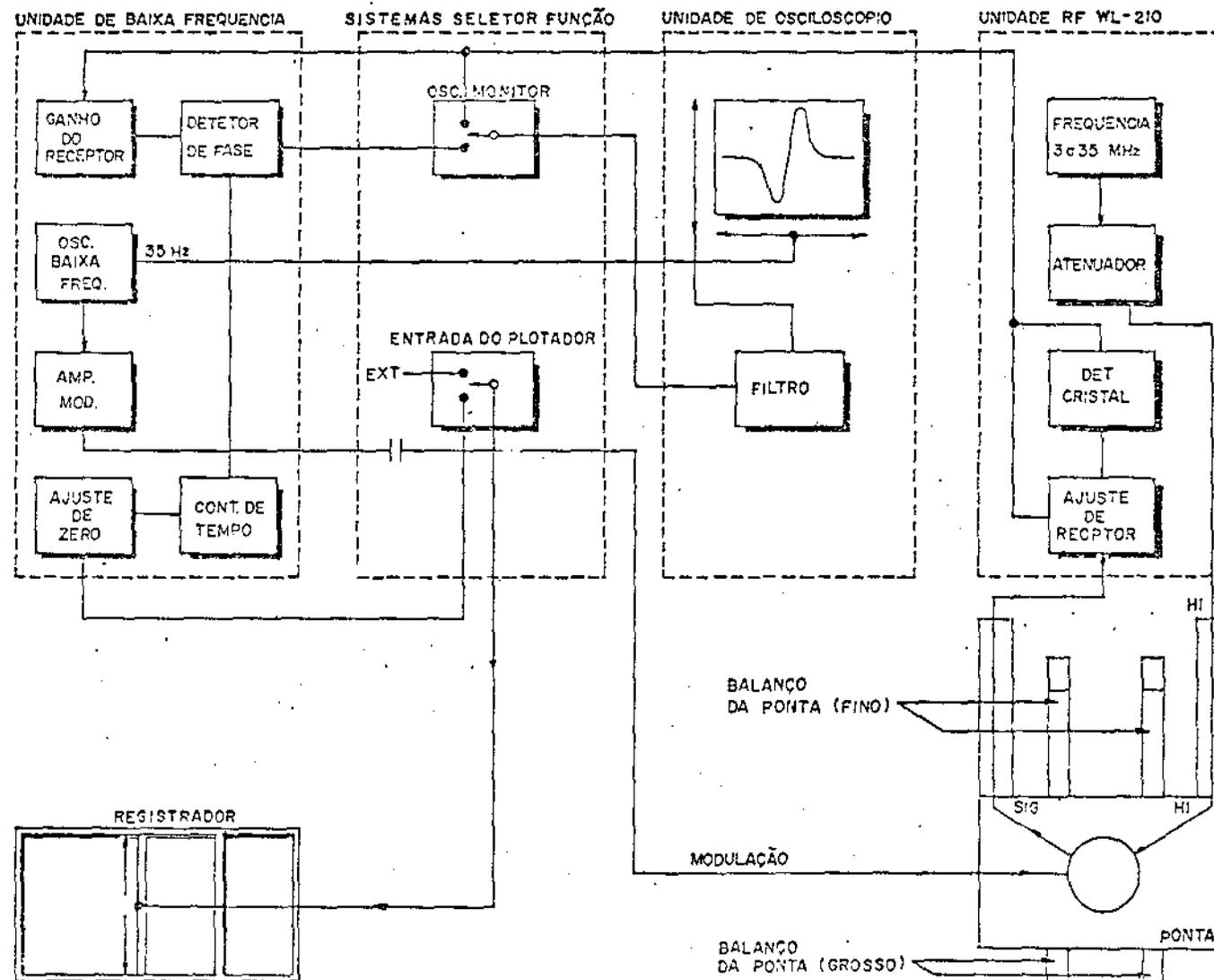


Fig. 2.IV - Diagrama de Blocos do Sistema RMN

trador.

Como no espectrômetro de RPE, o eixo X é controlado pelo sensor Hall.

2.2.2 - Calibração do Campo Magnético

Fez-se necessária uma curva de calibração a fim de eliminar as imprecisões apresentadas pela leitura do seletor de campo, quando em uso tanto em RMN como em RPE.

A curva foi levantada utilizando as ressonâncias do próton e do deutério..

Variando o par campo-frequência, registrou-se as ressonâncias em diferentes valores de campo.

A frequência foi medida num frequencímetro Hewlett-Packard 5305 A, com precisão de $1/10^6$.

O campo pode ser obtido usando a expressão (1.5).

$$h\nu = g \beta_N H$$

Tomando:

$$h = (6,26196 \pm 0,000050) \times 10^{-27} \text{ erg.s}$$

$$\beta_N = (5,50951 \pm 0,000050) \times 10^{-27} \text{ erg/G}$$

tem-se:

$$H \text{ (gauss)} = 1311,871 \nu(\text{MHz})/g \quad (2.9)$$

Sendo:

$$g_{\text{próton}} = 5,585564$$

$$g_{\text{deutério}} = 0,857438$$

a equação (2.9) pode ser escrita como:

$$H_{\text{próton}} \text{ (gauss)} = 234,868 \nu \text{ (MHz)} \quad (2.10)$$

$$H_{\text{deutério}} \text{ (gauss)} = 1.529,99 \nu \text{ (MHz)} \quad (2.11)$$

A partir das equações (2.10) e (2.11) e dos pares campo-frequência colhidos foi possível, com auxílio do computador, levantar a curva de calibração (Fig. 2.V).

2.2.3 - Orientação de Amostras

Para o estudo da dependência do sinal RMN em função da disposição da amostra, foram elaborados dois arranjos: 1) "em pé" e 2) "deitado" (Fig. 2.VI (a) e (b) respectivamente).

Acomodados dentro de tubos de ensaio, as sementes puderam ser giradas em torno dos eixos z e z' . Um goniômetro acoplado a ponta de prova permitia a rotação do tubo de ensaio.

2.2.4 - Hidratação

Dois dispositivos foram criados para o estudo de hidratação.

a) Para Grão Crú ou Torrado

- Um tubo de ensaio fechado com água destilada ao fundo simulando um ambiente saturado em água.

Os grãos são assentados "em pé" sobre um pedestal (Fig. 2.VII).

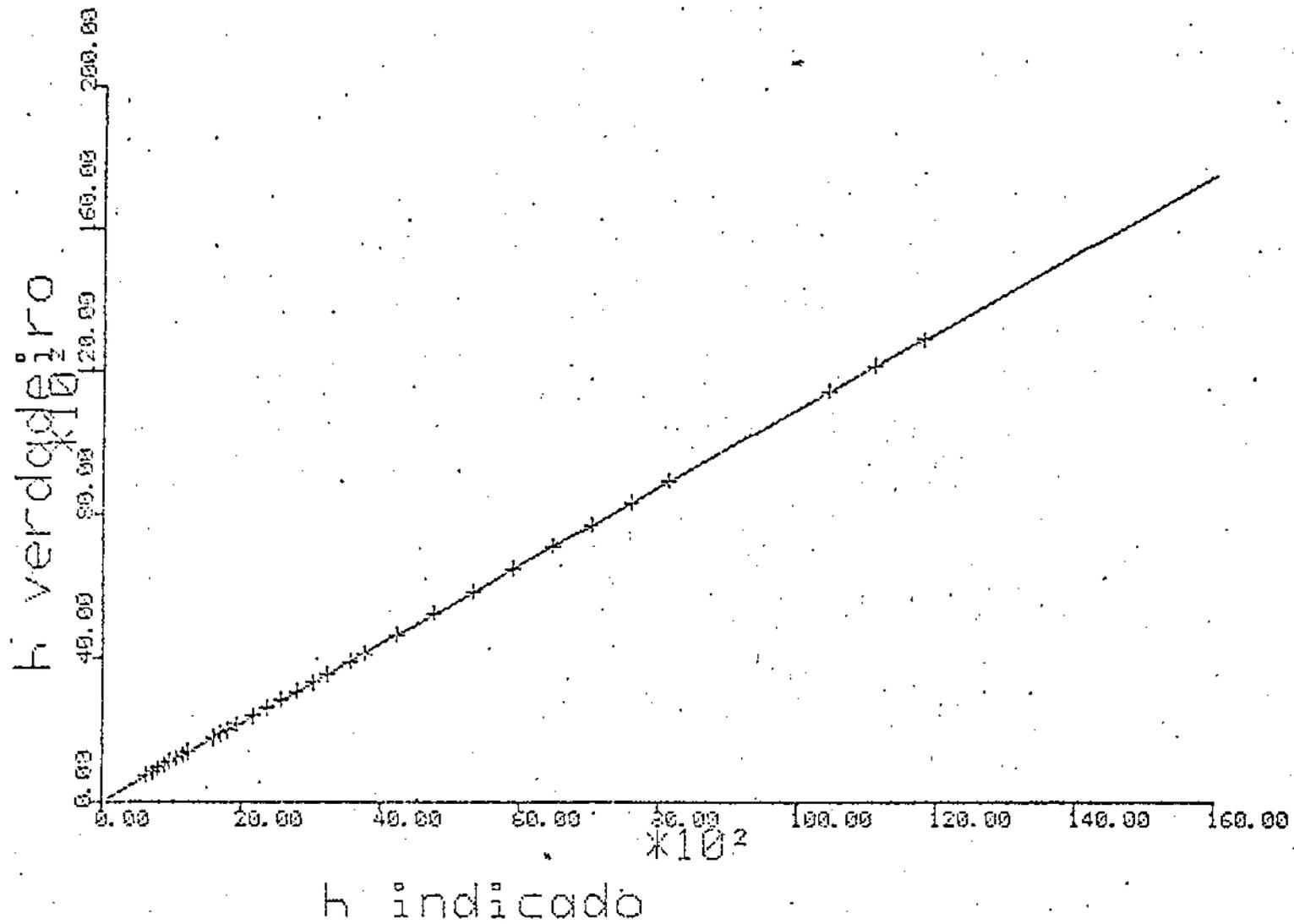


Fig. 2.V - Curva de calibração do campo Magnético Estático

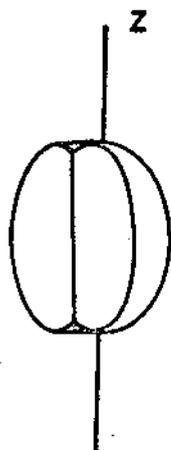


Fig.2.VI (a) Grão de Café "em pé"

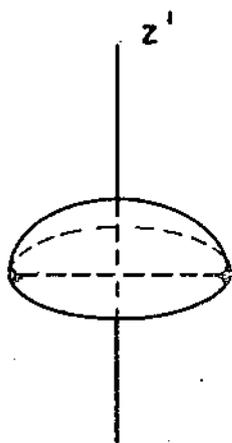


Fig.2.VI (b) Grão de Café "deitado"

b) Para Café Crú ou Torrado em Pó

- Como na disposição anterior, diferindo apenas no pedestal. A base plana e perfurada é substituída por um copinho (Fig. 2.VIII).

2.2.5 - Saturação em Potência

Variando a potência da RF que atinge a amostra é possível determinar o melhor ponto de operação.

Ao colocar-se em gráfico as intensidades do sinal de RMN em função da potência aplicada, levanta-se a curva de saturação da linha sob observação.

No caso do café, as linhas ("larga" e "fina") tem seus picos da curva de saturação bem definidos. Assim, trabalhando em potência adequada, é possível aumentar ao máximo a intensidade do sinal de interesse e atenuar o outro. Os sistemas podem ser distinguidos por esse processo em função de seus diferentes tempos de relaxação.

2.3 - Torrador

O aparelho, para uso específico de laboratório, é da marca PROBAT-WERKE. O controle de temperatura do aparelho permite a variação de 0 - 300°C. A temperatura é indicada por um dispositivo mecânico acionado por dilatação térmica. O torrador admite uma massa de - 0,3 Kg de café a cada torração.

A leitura de temperatura tornou-se mais precisa com auxílio de um termopar de Fe-Constantan (com temperatura de referência à 0°C) de um multímetro digital (ECB, MDA-200) e uma

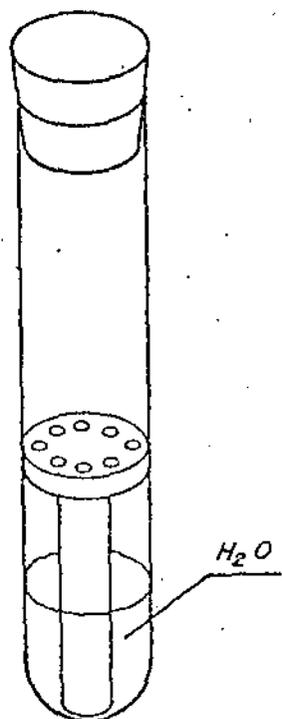


Fig. VII - Dispositivo de hidratação para grãos

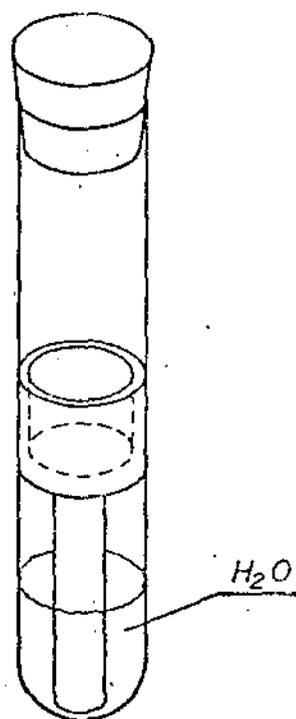


Fig.VIII - Dispositivo de hidratação para pó

tabela de conversão.

2.3.1 - Perda de Massa

Sabendo-se a massa antes e depois da torração, através de pesagem em balança analítica, é possível representar num gráfico a perda de massa por torração em função do tempo e da temperatura de torração.

2.4 - Moinho

O moinho utilizado é o moinho de bolas. Considera-se que seja o tipo de moinho no qual ocorre a menor perda de substâncias químicas do café, especialmente a fração de óleo, devido ao aumento de temperatura envolvido no processo.

Um motor elétrico gira um eixo que é acoplado a um mancal fixado de modo excêntrico. Este mancal movimenta um recipiente de aço inoxidável, dentro do qual é colocada a amostra a ser moída junto a uma esfera de aço inoxidável.

O tempo de moagem foi para todas as amostras de aproximadamente um minuto.

2.5 - O Café

As amostras de café, estudadas neste trabalho, foram preparadas a partir de grãos de café obtidos junto ao IBC de Campinas. São de espécie *Coffea arábica*, L., variedade Mundo Novo, linhagem CP 379/19.

O campo de plantio tem as seguintes características:*

Localização : - latitude 22°53' sul
 - longitude 47°05' oeste
 - altitude 663 m

Temperatura Média : 20,6°C

Precipitação Média Anual : 1370 mm

Solo Podzólico Vermelho Amarelo-Orto**.

O sistema de preparo foi por via úmida (café despulpado), sendo que para as análises foram selecionadas lotes de cafês isentos de impurezas ou defeitos, através de colheita a dedo, os grãos foram descascados em descascador de amostras no IBC em São Paulo.

* Dados colhidos junto ao Dr. Ângelo Paes de Camargo - Climatologista do NTC.

** Retirado da Carta de Solos do Estado de São Paulo.

CAPÍTULO III

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

3.1 - Em Ressonância Magnética Nuclear

Sabe-se que a água contida em produtos alimentícios joga um papel importante na conservação dos mesmos. Um estudo sobre os prótons de hidrogênio do café foi realizado com o objetivo de verificar a mobilidade da água no café, estimando sua atividade e a dependência de outros parâmetros, tais como temperatura e umidade ambiental.

3.1.1.1 - Espectro Característico do Grão Crú de Café

Amostras de café crú (grão cereja/passa "in natura") foram investigados utilizando a RMN. O grão foi despolpado e teve o pergaminho e a película prateada retirados. Levada à ressonância, a amostra apresentou duas linhas distintas de prótons (de hidrogênio). Uma com cerca de 20 mG ("fina") e outra com cerca de 6 G ("larga") de largura de linha.

O espectro característico é apresentado na Fig.3.I (a). Neste espectro não é visível a linha "larga" devido à grande umidade existente no grão. A linha "fina" apresenta-se mais larga do que foi dito em razão da amplitude de modulação usada ser muito maior do que sua largura de linha.

A linha "larga" está bem caracterizada no espectro da Fig. 3.I (b). Trata-se do mesmo grão, contudo o espectro foi tirado após a amostra ser submetida a uma perda forçada de água por aquecimento a 60°C em estufa.

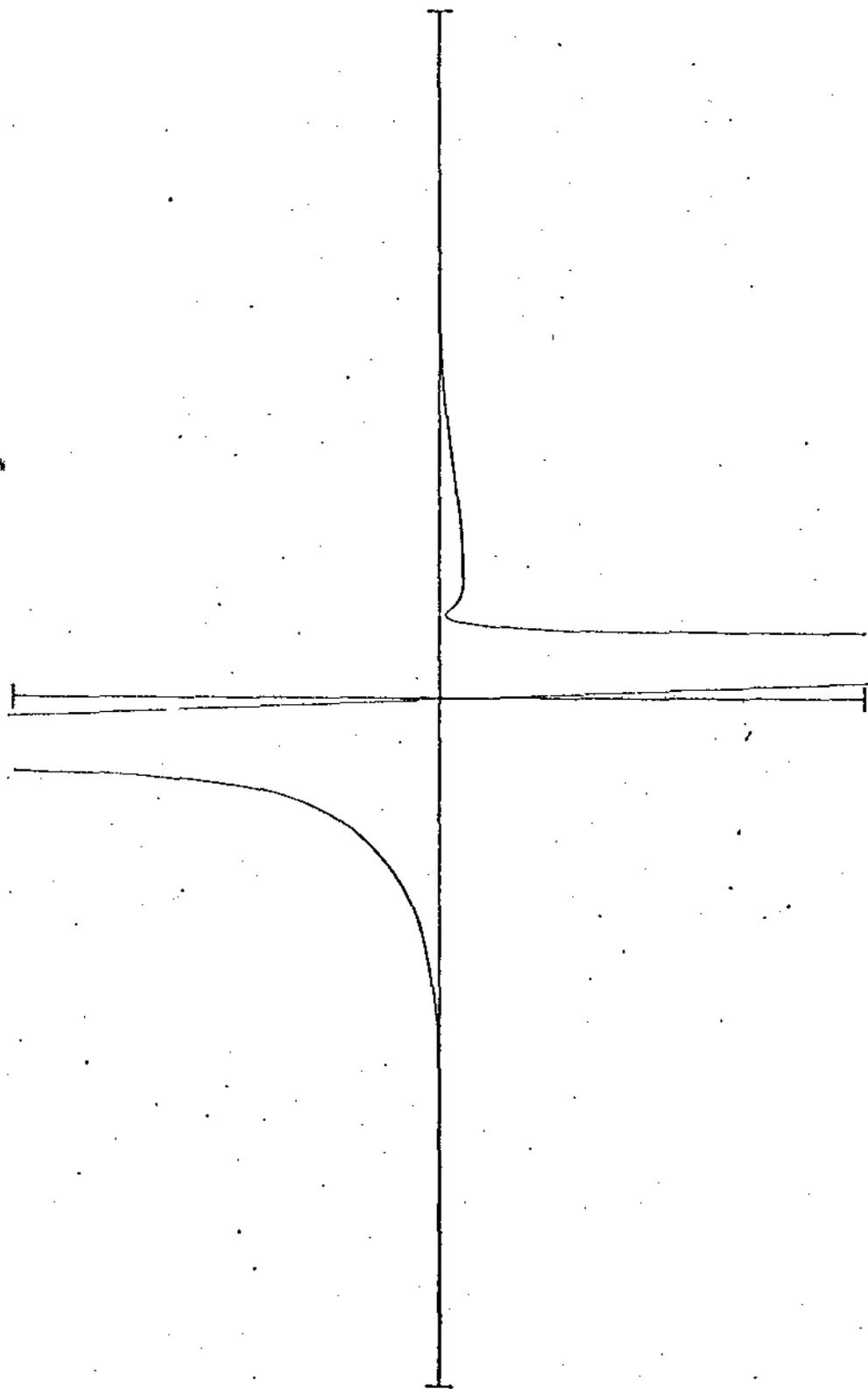


Fig. 3.1 (a) Espectro Característico do Grão Crú do Café

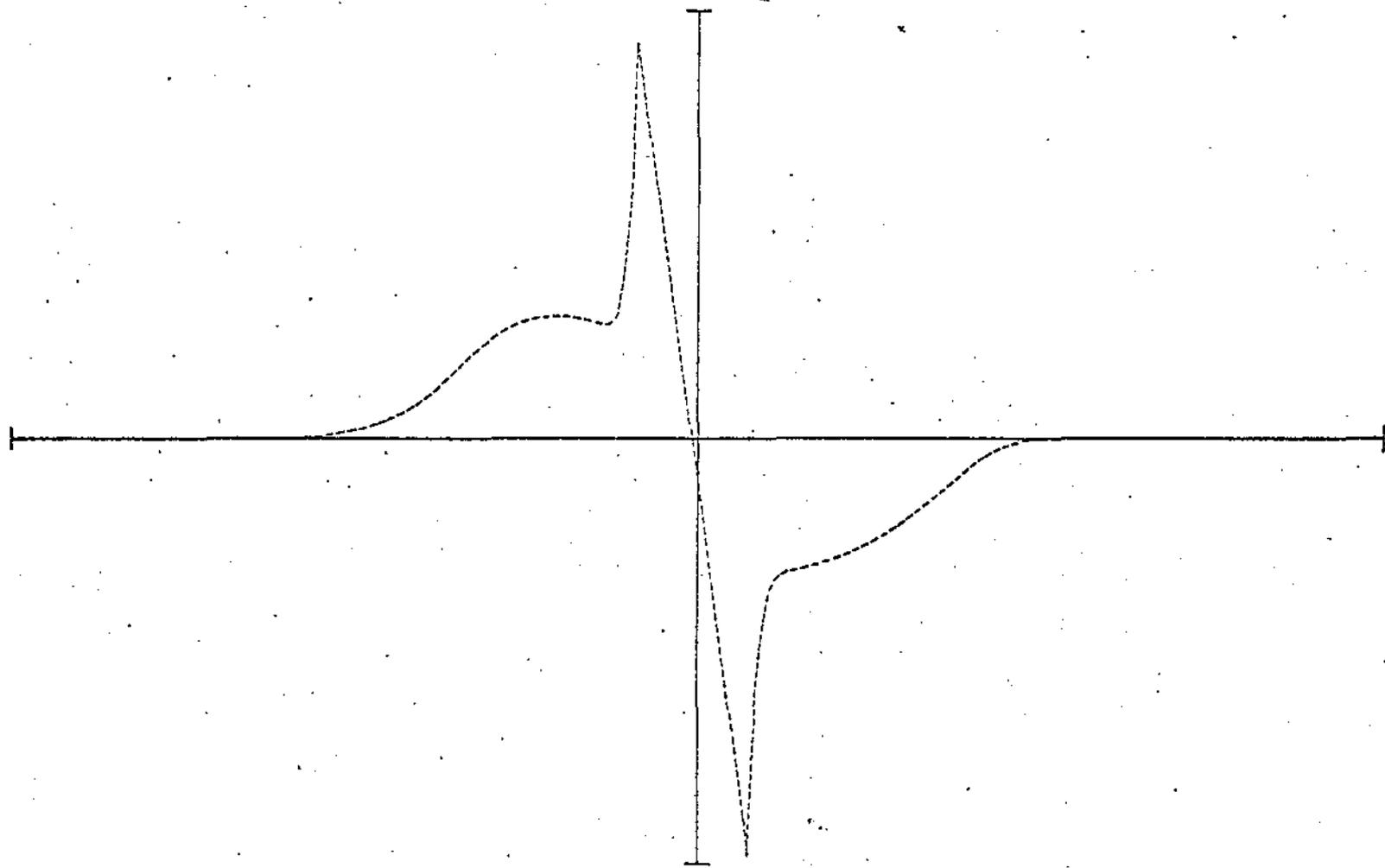


Fig. 3.I (b) Espectro Característico do Grão Crú de Café após Aquecimento em Estufa.

3.1.1.2- Saturação em Potência

Os gráficos das Figs. 3.II (a) e (b) mostram as curvas de saturação das duas linhas no grão crú, e foram obtidas usando o procedimento descrito na seção 2.2.5.

Através delas, obtém-se a melhor potência para estudar uma ou outra linha em específico. Para linha "fina" a potência é de $\sim 35 \mu\text{A}$ e para linha "larga" de $\sim 120 \mu\text{A}$.

O gráfico da Fig. III é a curva de saturação do óleo puro de café. Este óleo foi obtido no IBC através de extração em SOXHLET com éter de petróleo.

3.1.1.3- Hidratação

Uma vez caracterizado o espectro do café crú em grão, procedeu-se a uma hidratação controlada do mesmo. Usando o dispositivo descrito na seção 2.2.4, obteve-se a evolução temporal da ação da água sobre o grão.

Pelos espectros da Fig. 3.V observa-se que diminuindo a umidade (água+voláteis) do grão por aquecimento em estufa, a linha "larga" aparece mais nitidamente. Isto acontece devido a diminuição de um efeito de mascaramento provocado pela linha "fina". O mascaramento é consequência de se operar a uma amplitude de modulação ($2G_{p-p}$) maior que a largura da linha "fina" sobrepondo-a a "linha" "larga" produzindo um efeito de anulamento.

Ainda na Fig. 3.V são vistas as alterações provocadas nas linhas por absorção de água pelo grão. Tanto o crescimento da linha "fina" como o da linha "larga" são mostrados

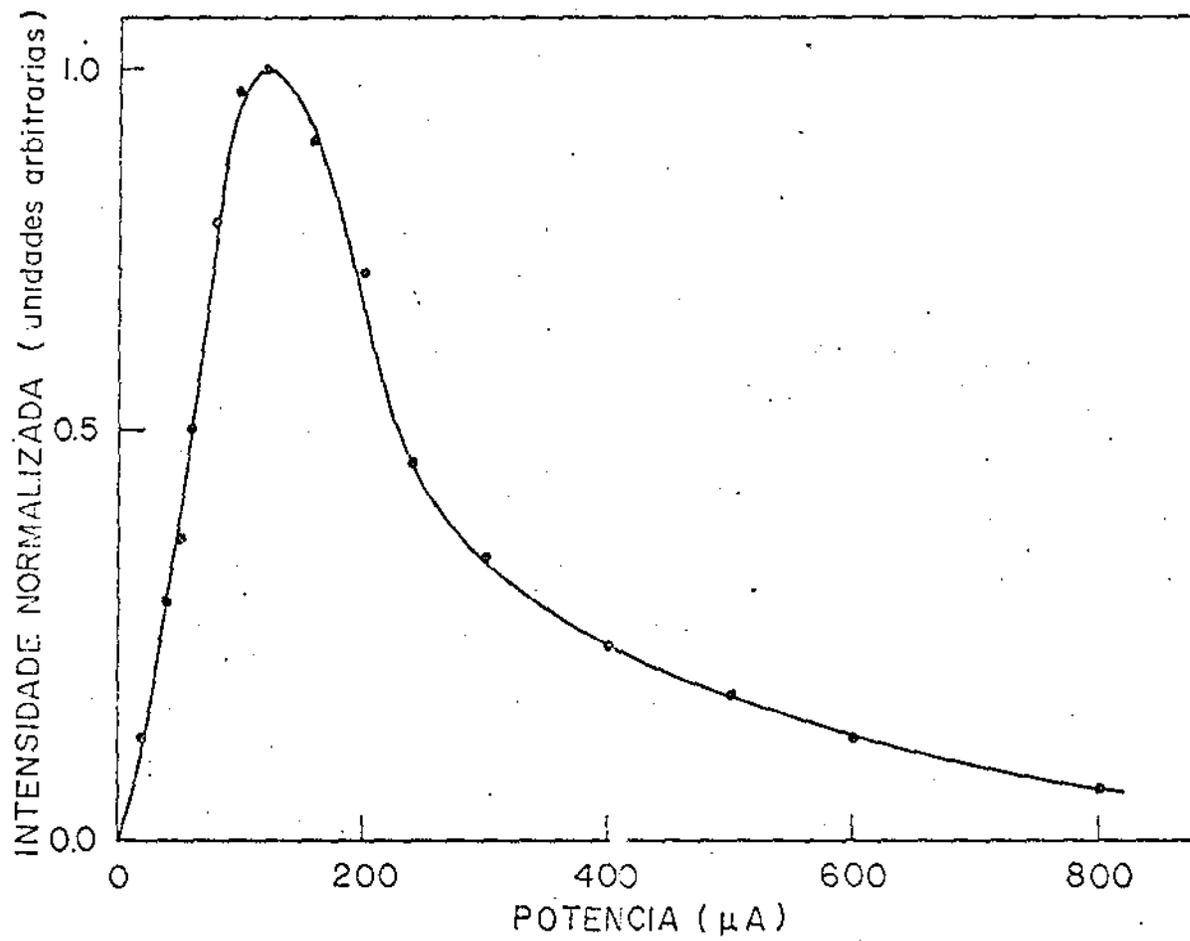


Fig. 3.II(a) Curva de Saturação em Potência do Grão Crú de Café
(Linha "Larga")

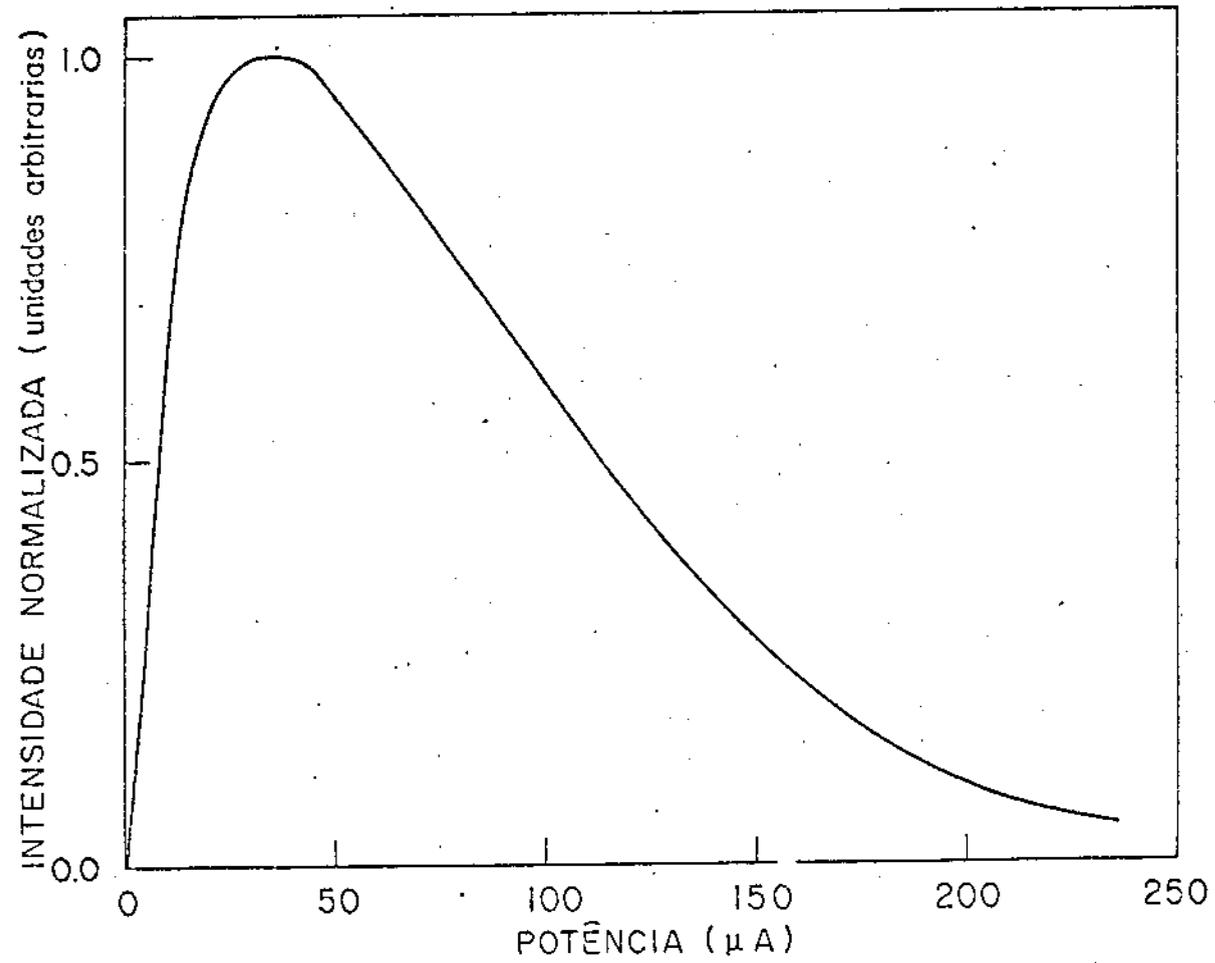


Fig. 3.II (b) Curva de Saturação em Potência do Grão Crú de Café (Linha "Fina")

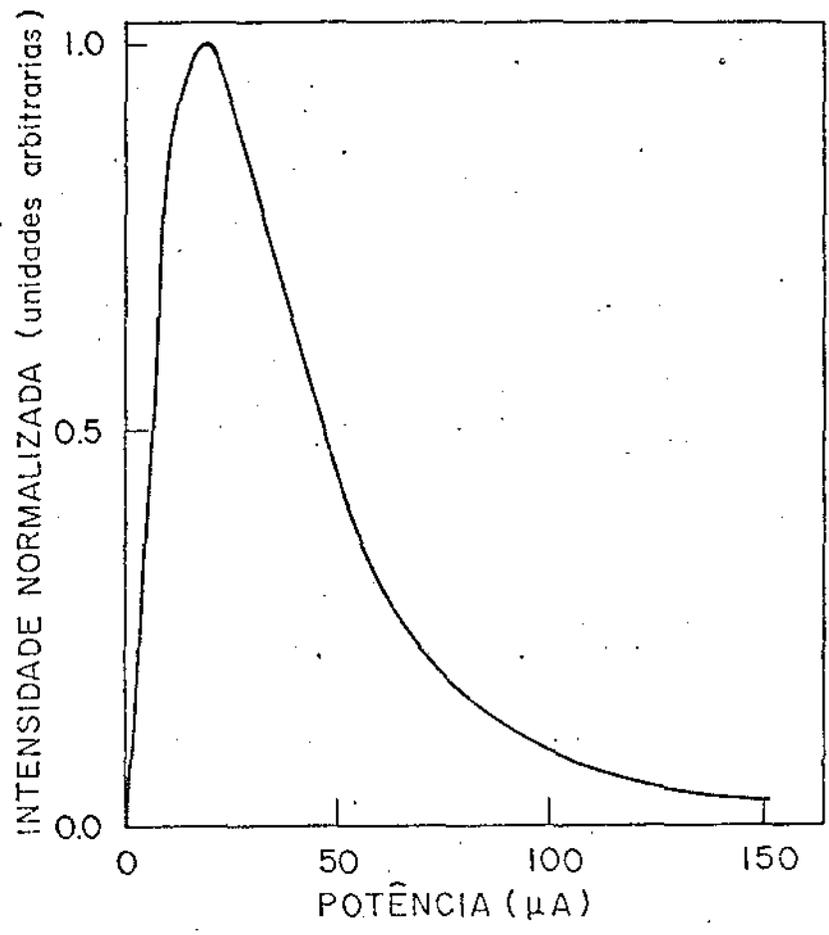


Fig. 3.III - Curva de Saturação em Potência do Óleo Puro de Café

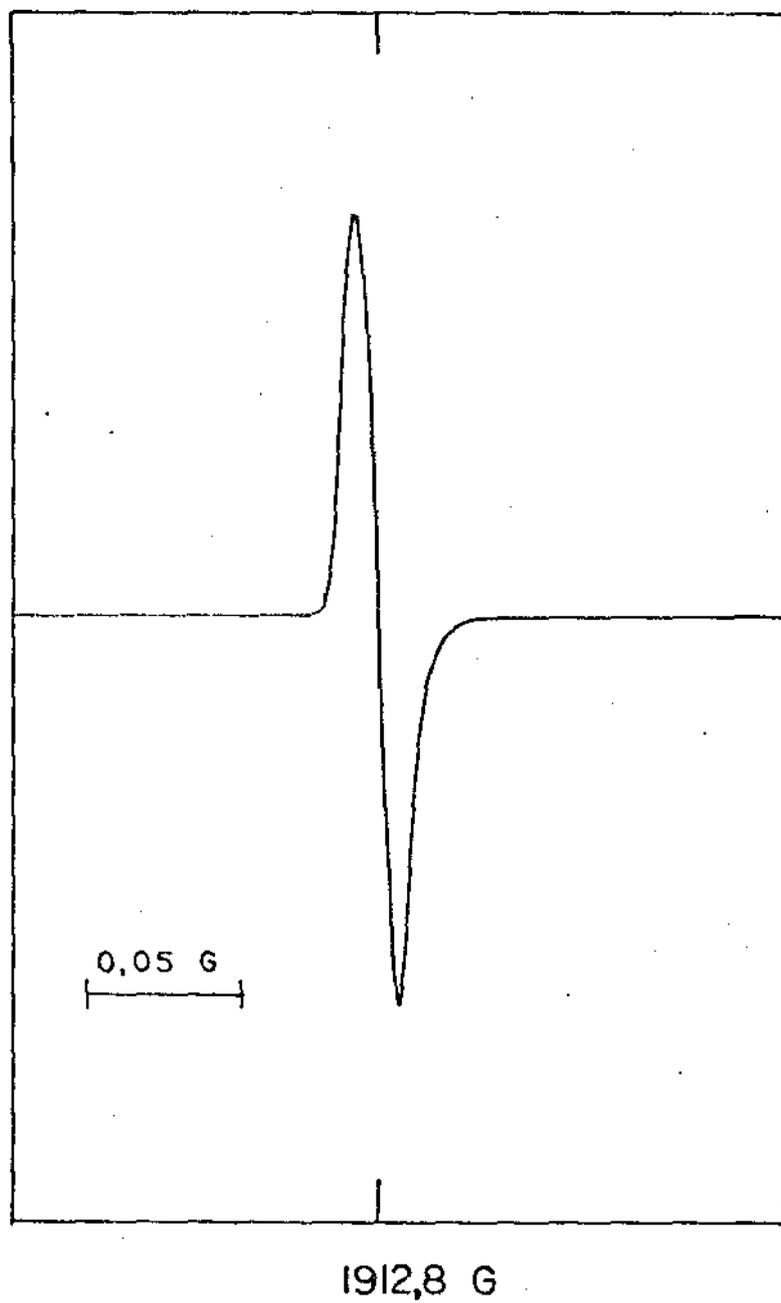


Fig. 3.IV (a) Espectro Característico do Óleo Puro de Café

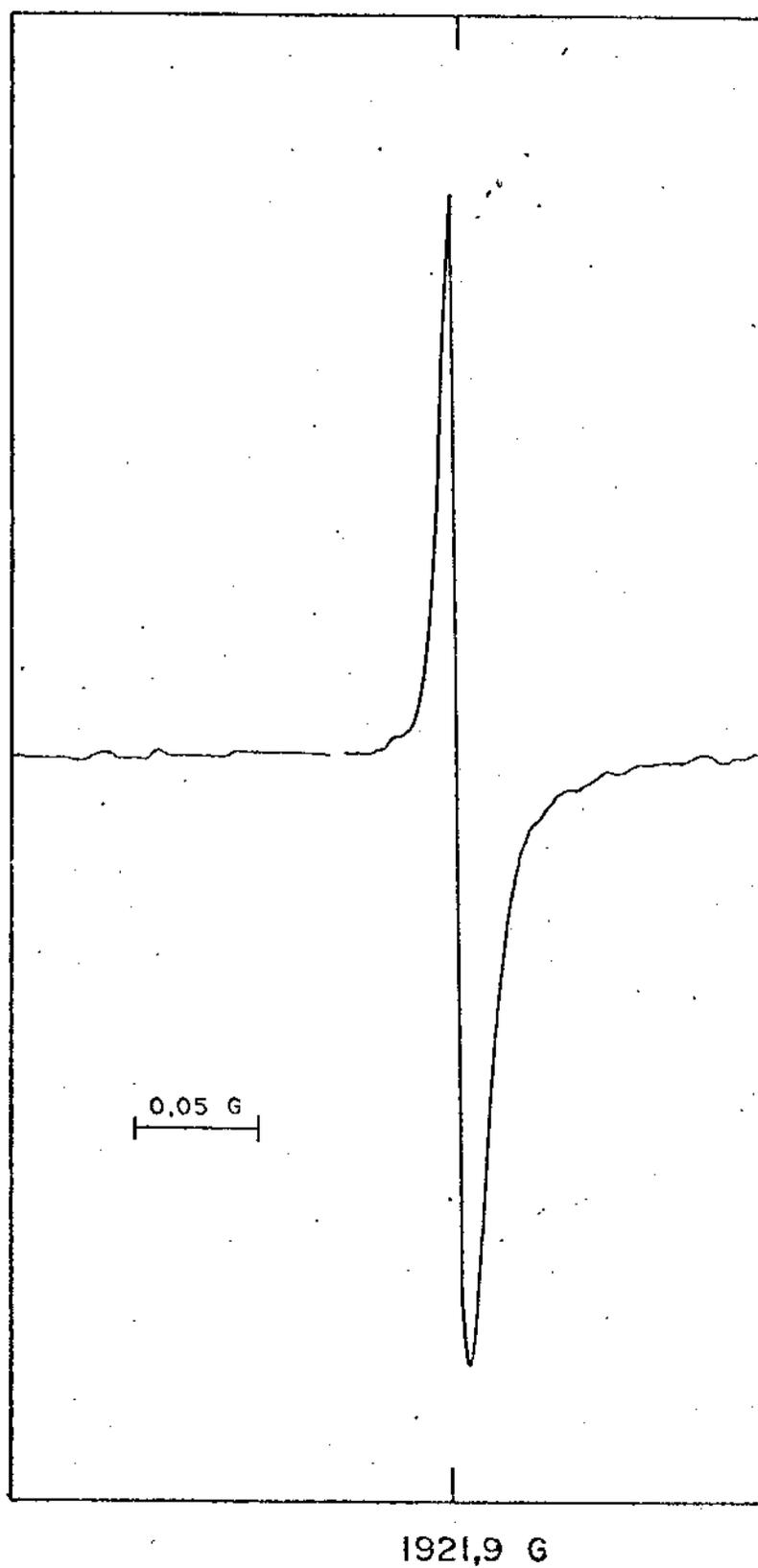


Fig. 3.IV (b) Linha "Fina" do Grão Crú de Café

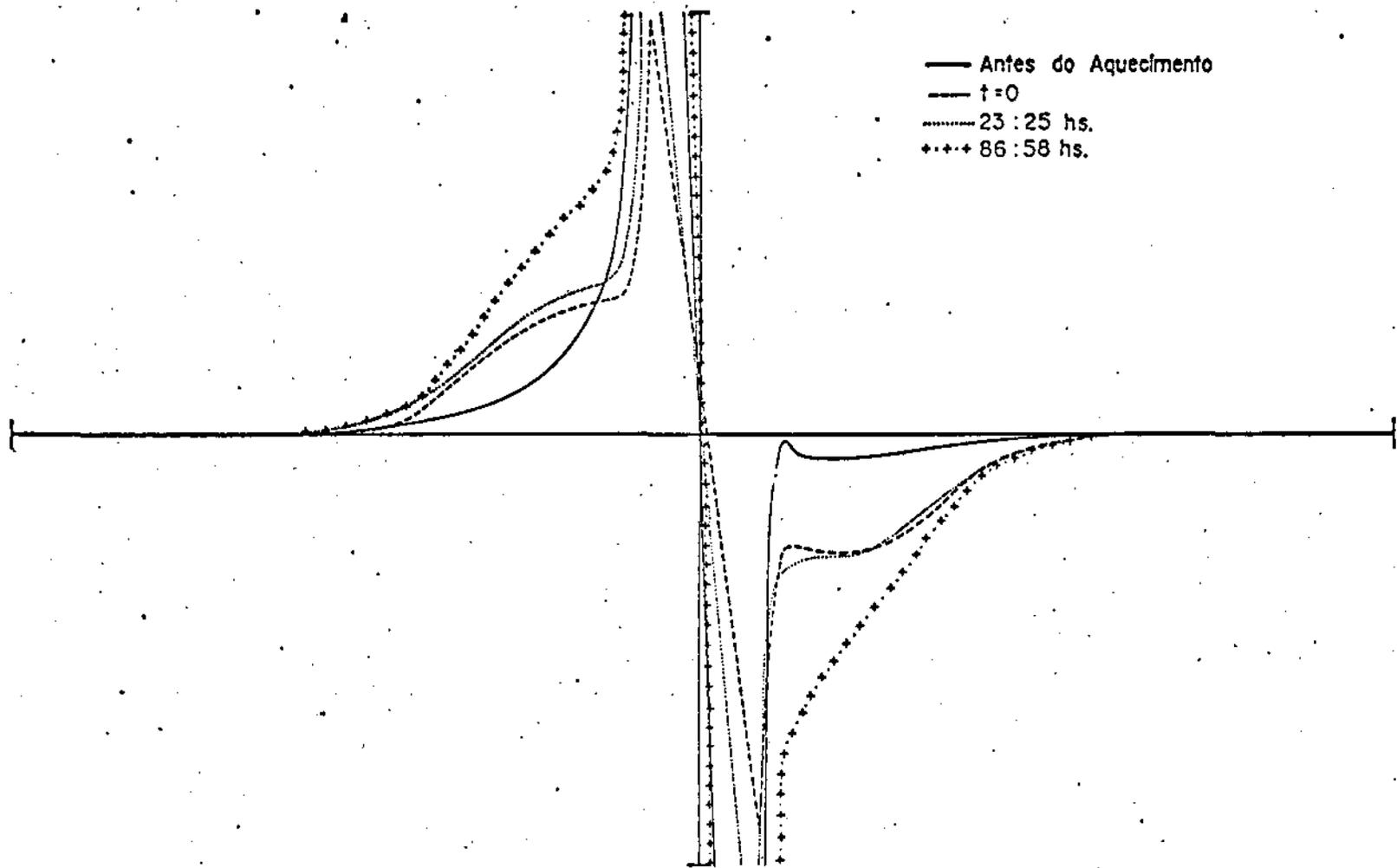


Fig. 3.V - Curva de Hidratação do Grão Crú de Café

terminando com o retorno do efeito de mascaramento quando a a mostra já está saturada de água.

No gráfico da Fig. 3.VI observa-se a evolução temporal da intensidade pico a pico da linha "fina" (água + óleo + voláteis). O sinal desta linha diminui com o aquecimento, a seguir cresce sob hidratação, para depois atingir seu ápice e voltar a diminuir.

3.1.1.4 - Maturação

O café de melhor qualidade para torração é obtido a partir da seleção de grãos cereja/passa, rejeitando-se grãos mais verdes.

Um estudo da influência do estado de maturação sobre a a linha "fina" é apresentado no gráfico da Fig. 3.VII.

O aroma e o sabor obtidos após a torração estão intimamente ligados ao grau de maturação atingido pelo grão.

Como se pode observar, a intensidade da linha "fina" aumenta do grão verde ao passa (grãos recém colhidos e não despulpados). Como café "passa", entende-se aqui um grão de tonalidade mais escura que o cereja, não sendo considerado portanto um defeito.

3.1.2.1 - Espectro Característico do Café Crú Moído

O espectro característico é apresentado na Fig. 3.VIII. Ele é semelhante àquele observado no grão crú de café, isto é, é composto de duas linhas, a "larga" (6 G) e a "fina" (< 20 mG).

A linha "larga" é nítida devido ao grão estocado

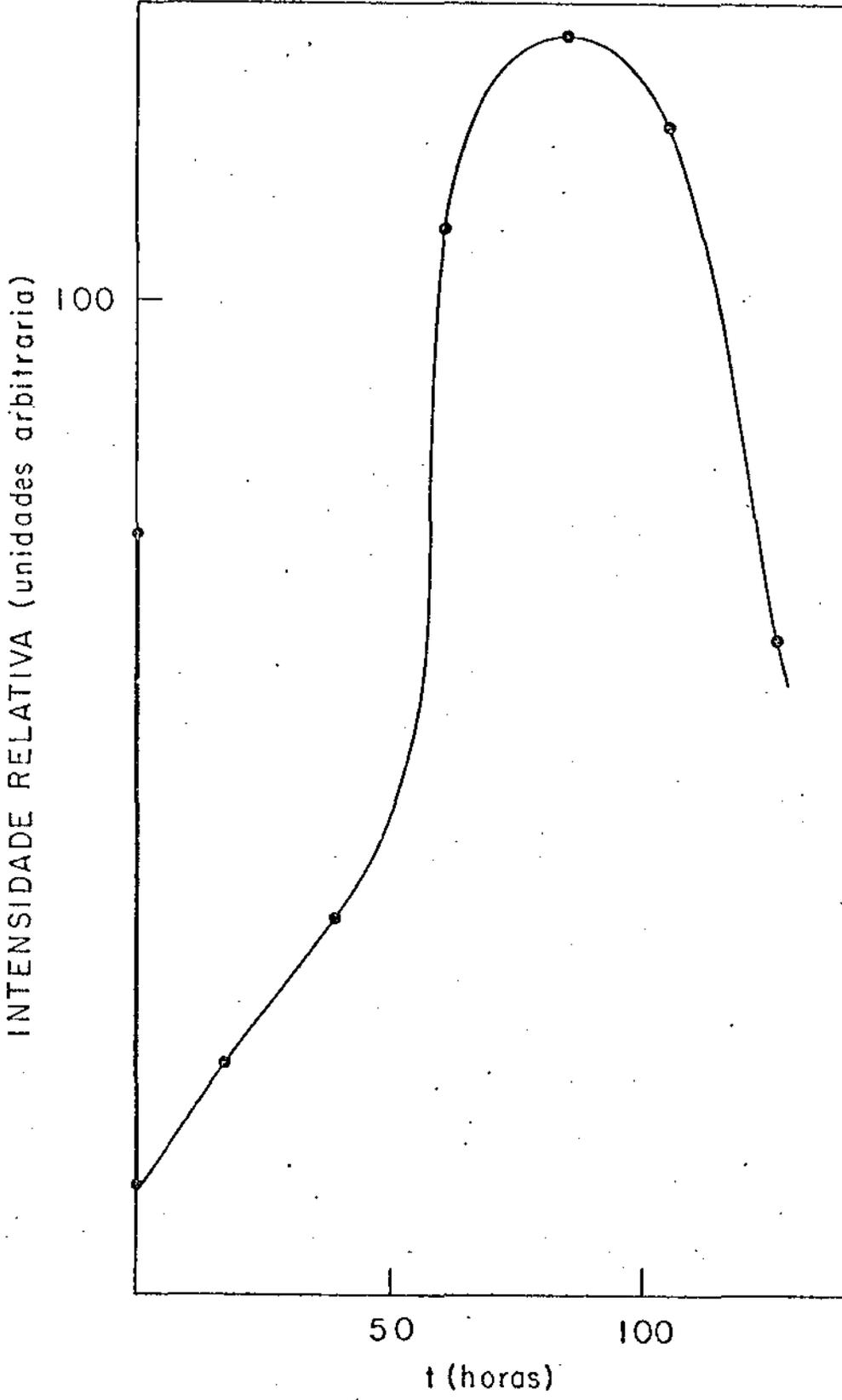


Fig. 3.VI - Intensidade da Linha "Fina" do Grão Cru de Café durante a Hidratação

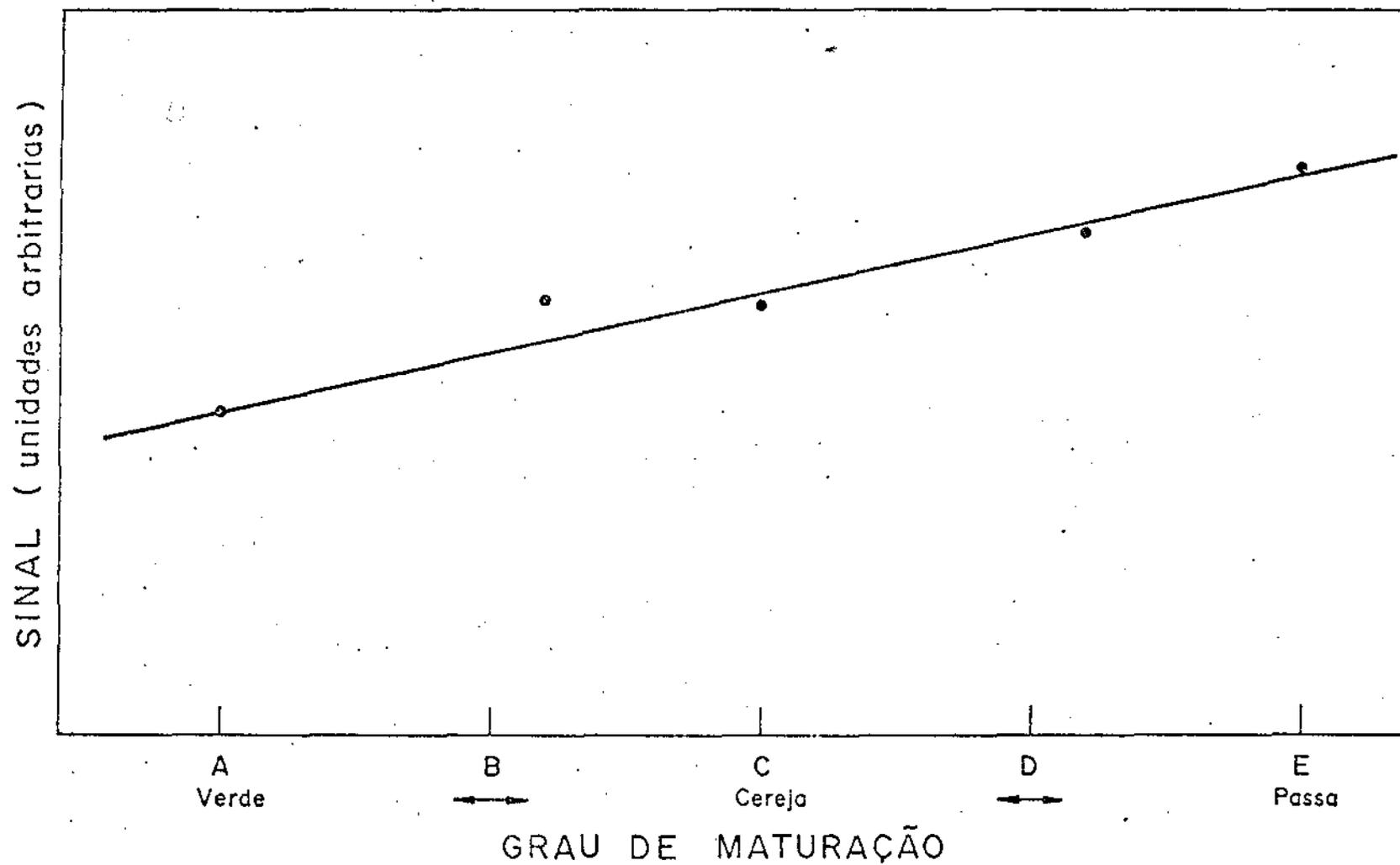


Fig. 3.VII - Curva da Intensidade da Linha "Fina" em Função do Grau de Maturação atingido pelo Grão.

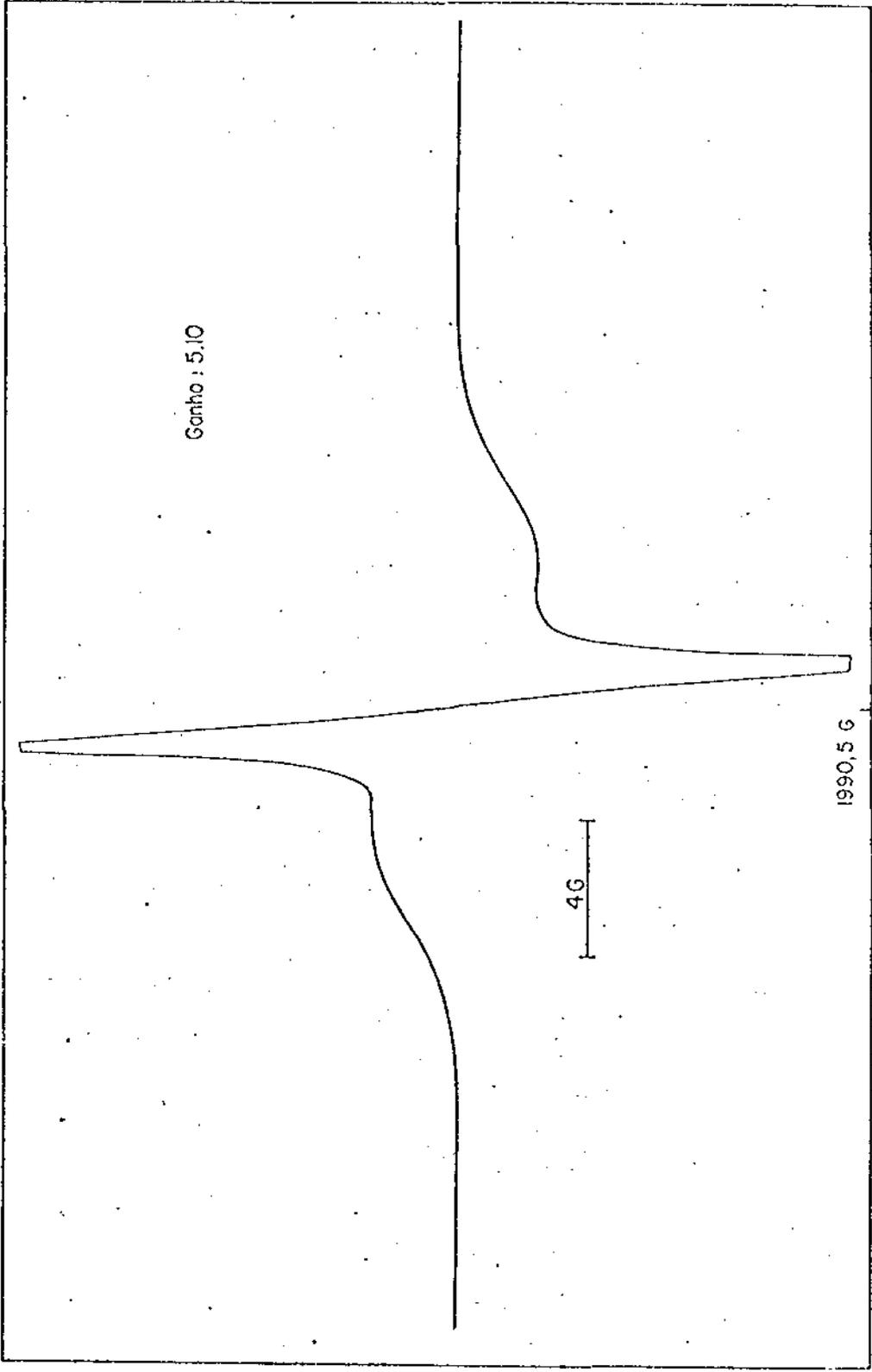


Fig. 3.VIII - Espectro Característico do Pó Crú de Café

ter baixo teor de umidade (grãos beneficiados, com umidade entre 10 e 14%).

3.1.2.2 - Saturação em Potência

As curvas de saturação em potência das Figs. 3.IX (a) e (b).

As potências ótimas de operação são para linha "fina" 30 μ A e para linha "larga" 120 μ A.

3.1.2.3 - Hidratação

O pó foi acondicionado no dispositivo descrito na seção 2.2.4.

As curvas comportam-se quase que identicamente à do grão crú (Fig. 3.X (a) e (b)).

3.1.3.1 - Espectro Característico do Grão de Café Torrado

Grãos de café torrados a 230^oC por 6 minutos apresentaram o espectro característico mostrado na Fig.3.XI. No aspecto geral não é diferente do grão crú de café, apresentando uma linha "larga" (6 G) e uma linha "fina" (< 20 mG).

As características são idênticas a do grão crú.

3.1.3.2 - Saturação em Potência

Nas Figs. 3.XII (a) e (b) são apresentadas as curvas de saturação em potência do grão torrado. Novamente há pouca variação em relação as curvas de saturação do café crú.

As potências ótimas de operação são para linha "fina" 20 μ A e para linha "larga" 120 μ A.

3.1.3.3 - Hidratação

O grão torrado é colocado num dispositivo igual ao utilizado para o grão crú. O comportamento das linhas é vis

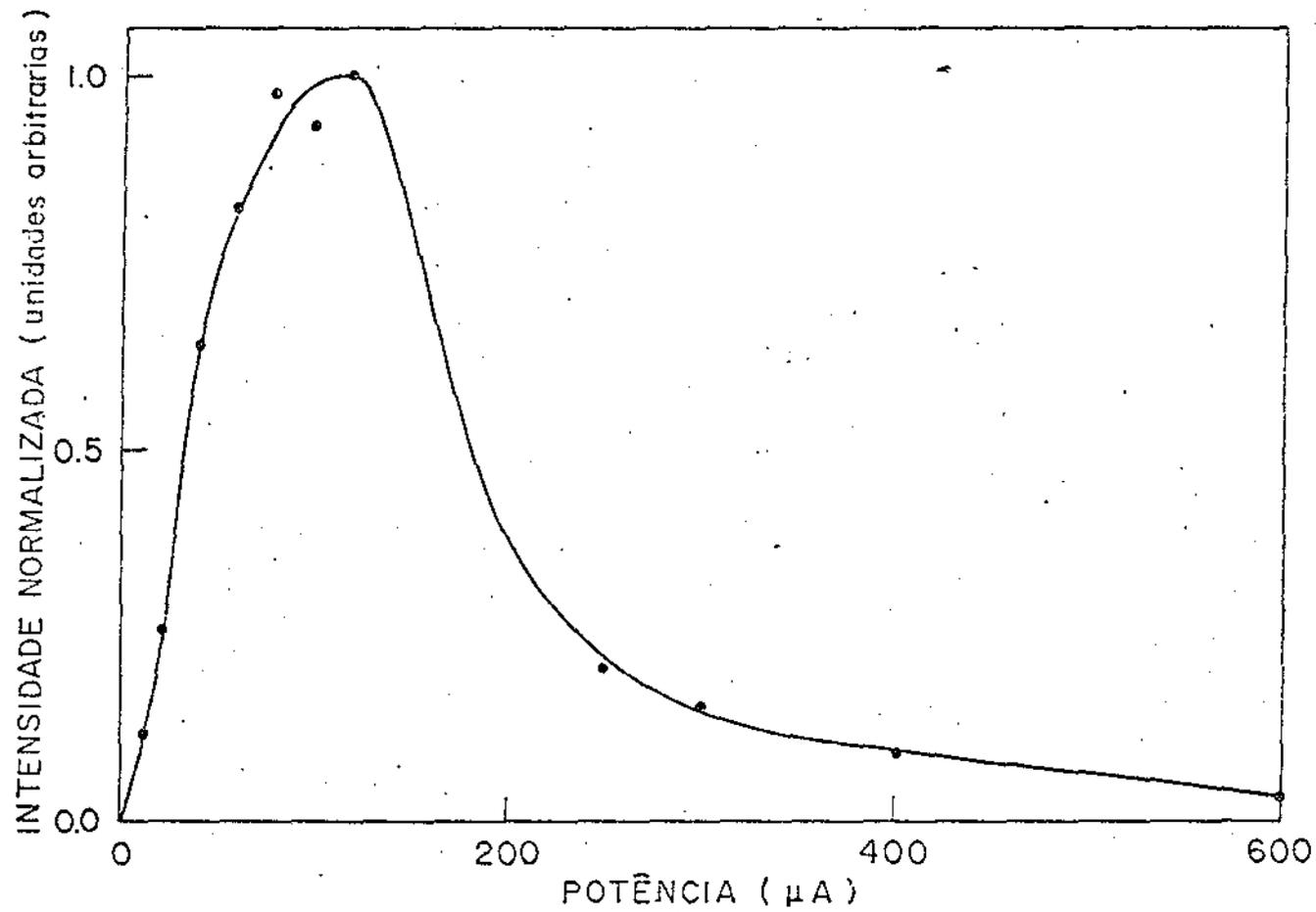


Fig. 3.IX (a) - Curva de Saturação em Potência do Pó Crú de Café
(Linha "Larga")

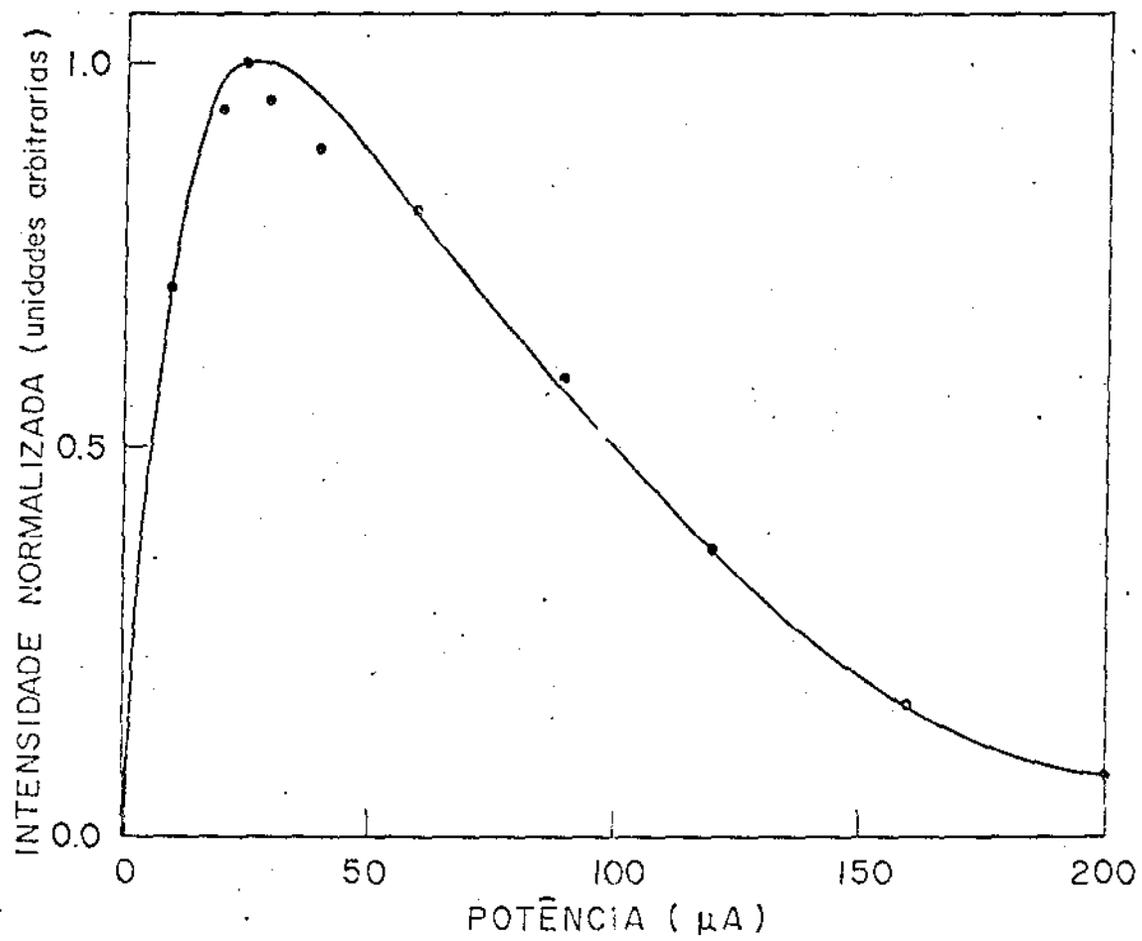


Fig. IX (b) Curva de Saturação em Potência do Pó Crú de Café (Linha "Fina")

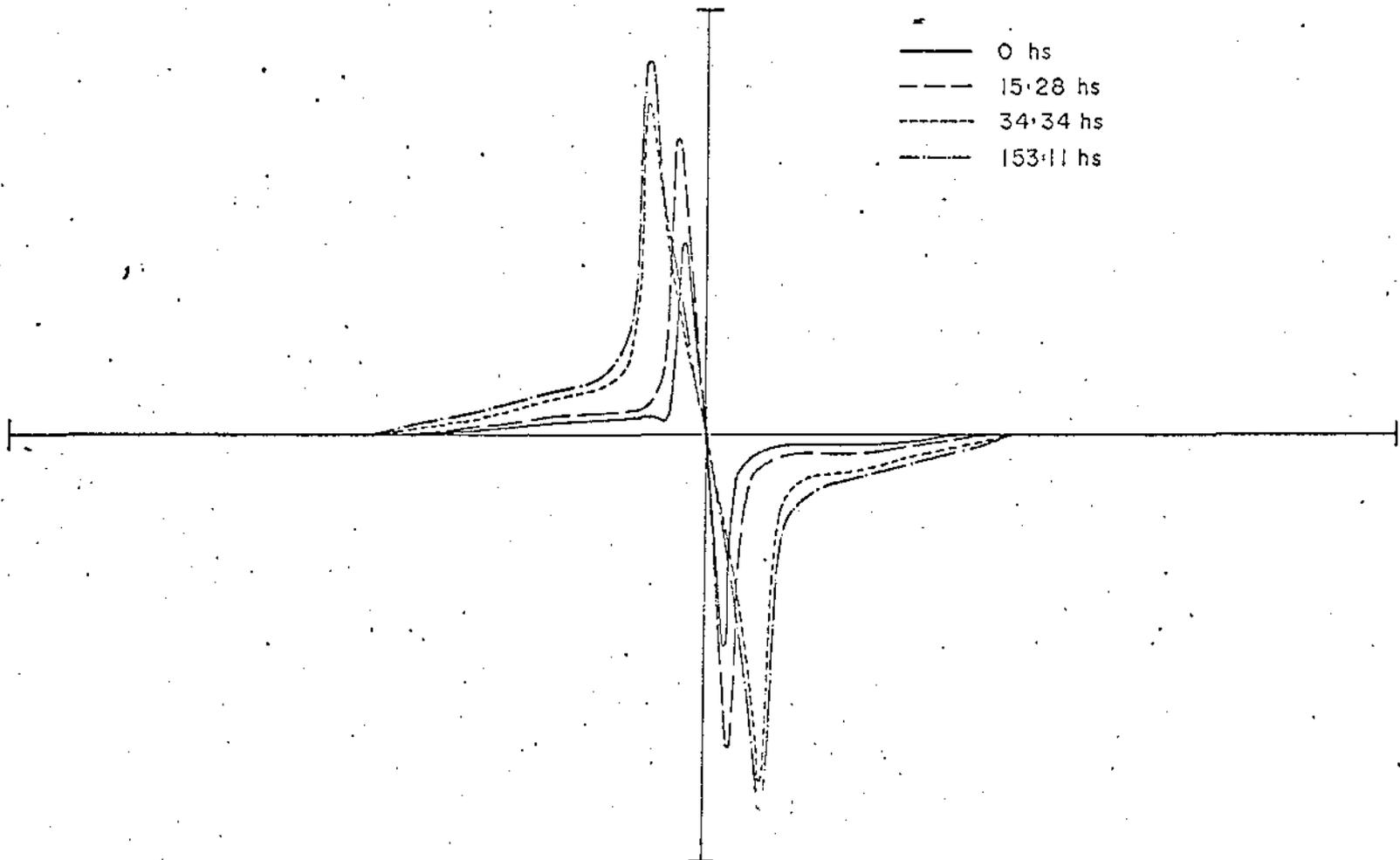


Fig. 3.X (a) Curva de Hidratação do Pó Crú de Café

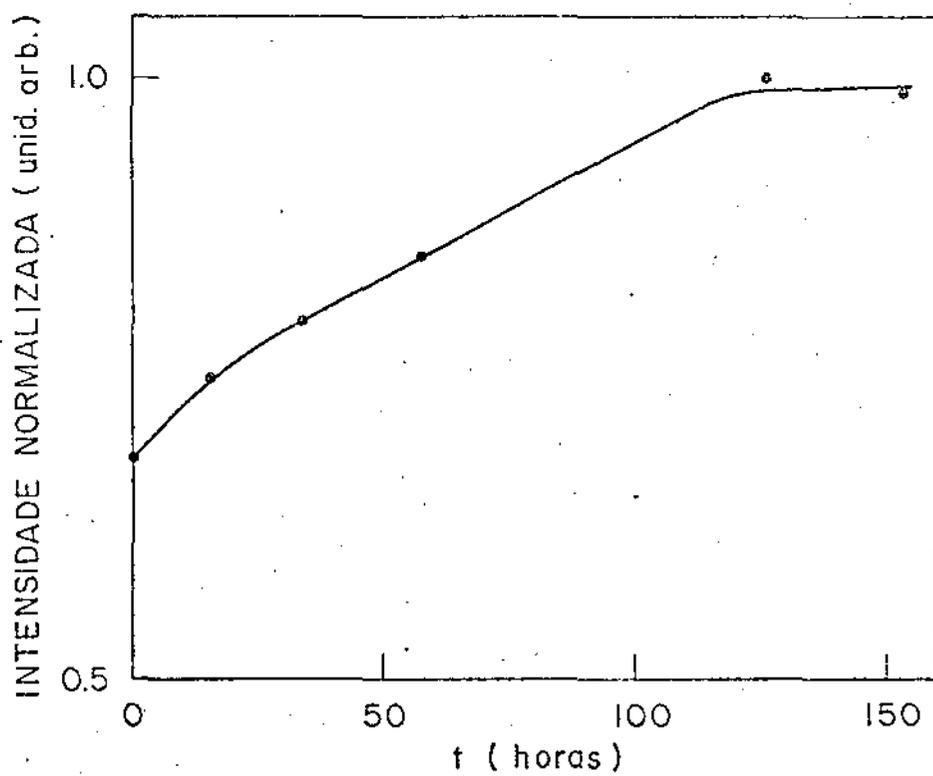


Fig. 3.X (b) Intensidade da Linha "Fina" do Pó Cru de Café durante a Hidratação

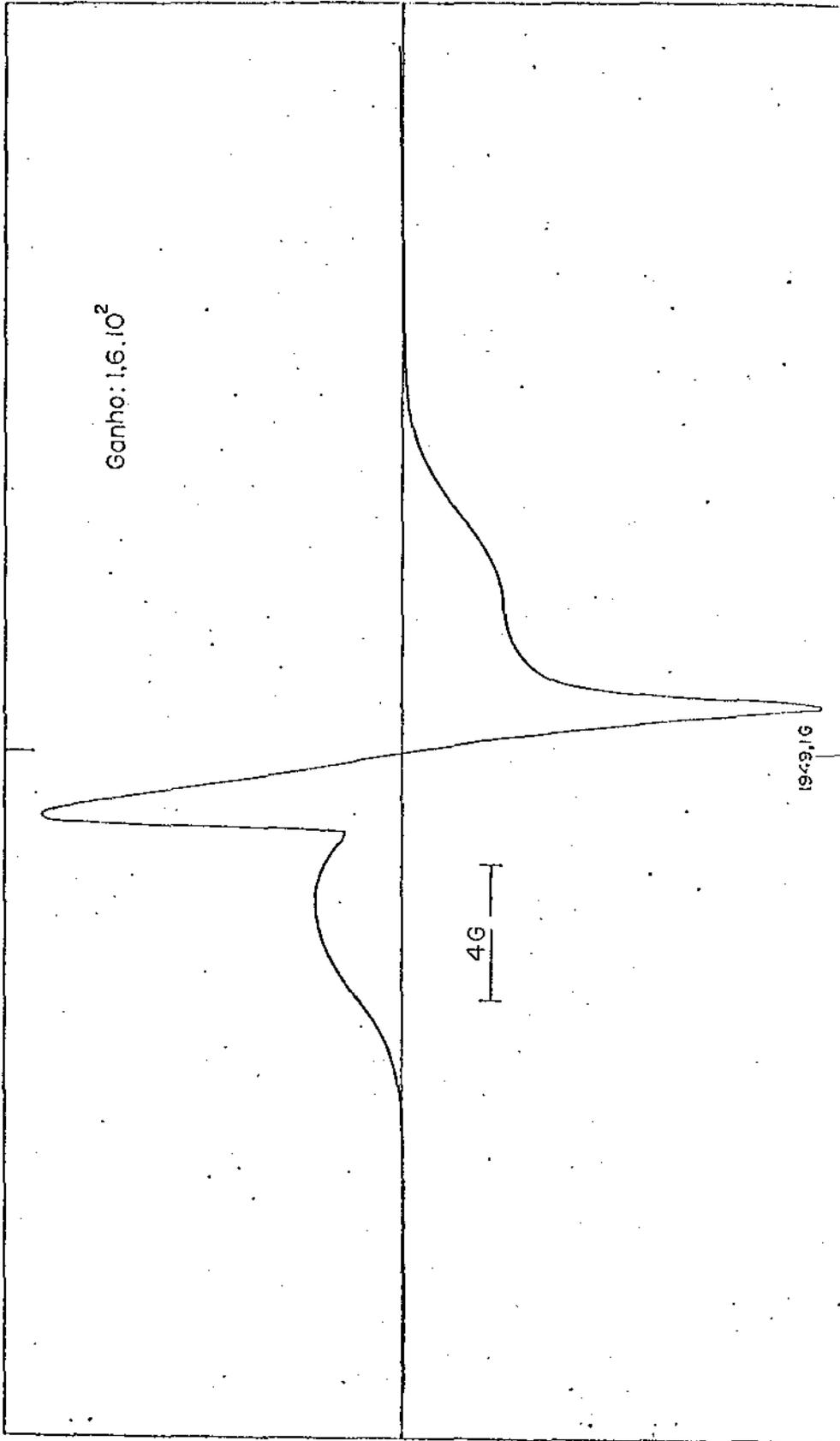


Fig. 3.XI - Espectro Característico do Grão de Café Torrado

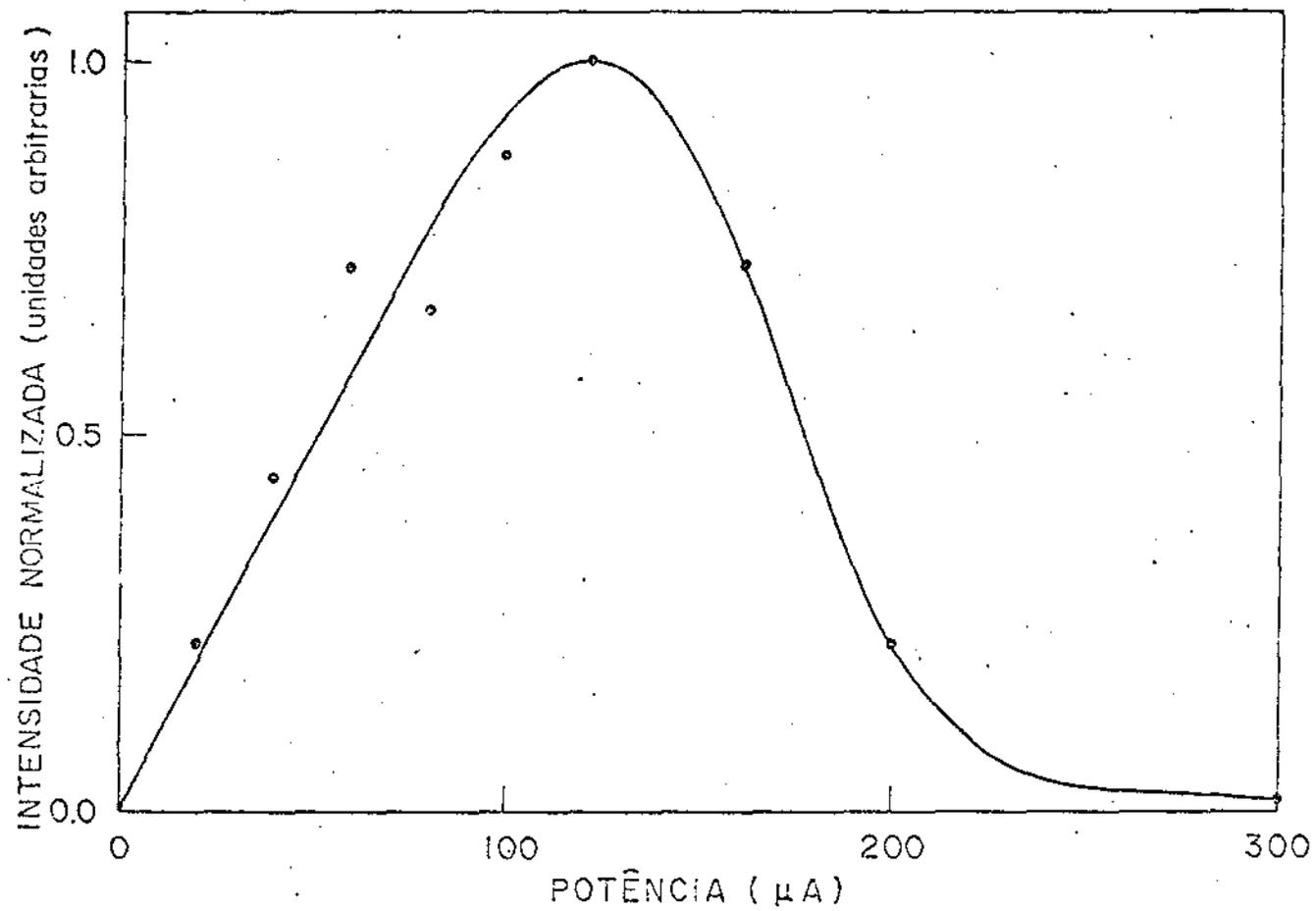


Fig.3.XII(a) Curva de Saturação em Potência do Grão Torrado de Café (Linha "Larga")

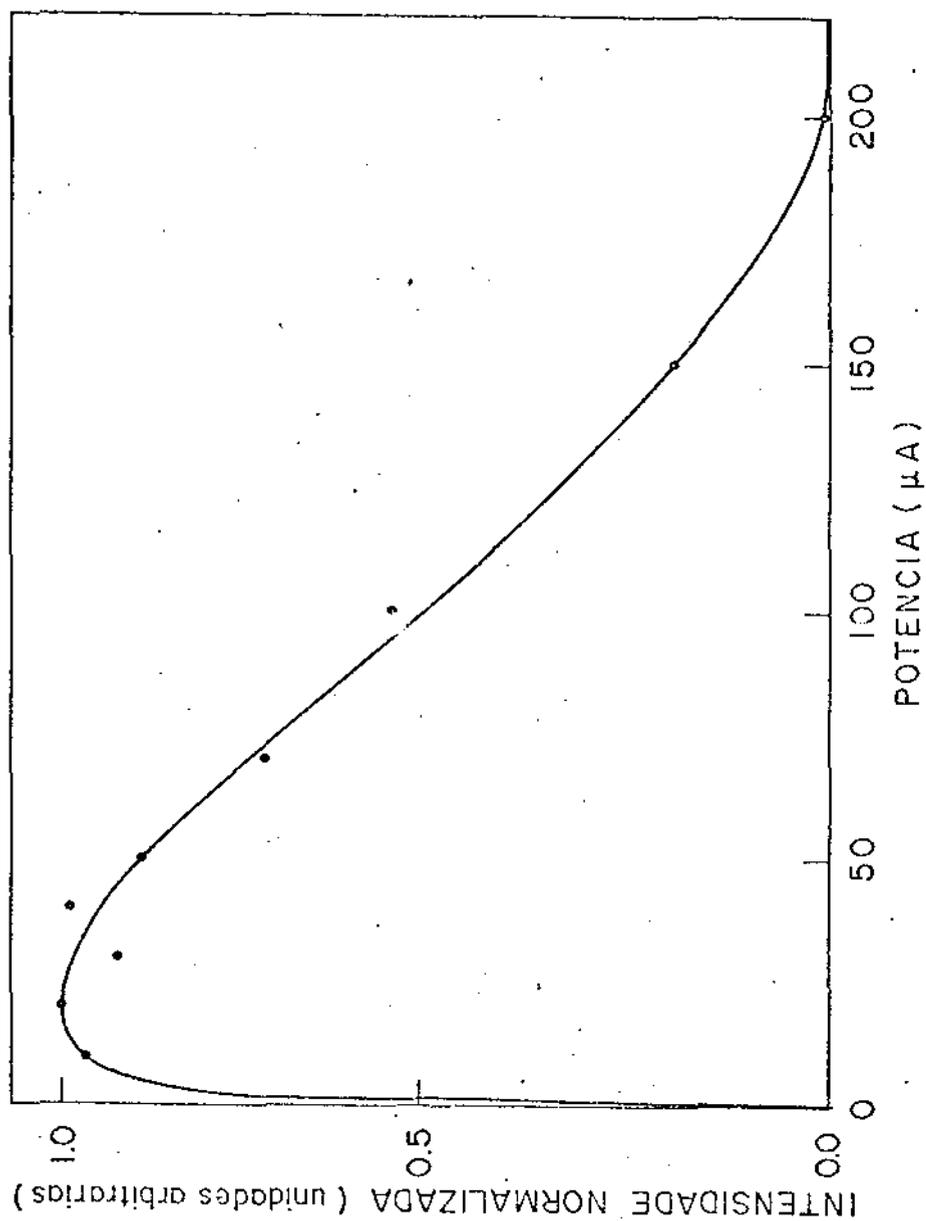


Fig. XII (b) Curva de Saturação em Potência do Grão Torrado de Café (Linha "Fina").

na Fig. 3.XIII (a) e (b).

3.1.4.1 - Espectro Característico do Pó de Café Torrado

Parte dos grãos torrados utilizados no experimento descrito na seção 3.1.3.1 foram moídos e o pó mostrou a curva característica vista na Fig. 3.XIV. Os espectros são similares aos do grão cru de café sendo compostos de uma linha "fina" (< 20 mG) e uma "larga" (6 G).

3.1.4.2 - Saturação em Potência

O pó torrado foi submetido a variação de intensidade do campo oscilante H_1 e o resultado da respostas das linhas a esta modificação é mostrada nas Fig. 3.XV (a) e (b).

As curvas de saturação, como nos três sistemas anteriores, mostram o mesmo padrão.

A corrente de saturação na linha "fina" é de $30\mu A$ e na linha "larga" é de $120\mu A$.

3.1.4.3 - Hidratação

A evolução temporal das linhas do pó de café torrado sob a ação da água pode ser observada nos espectros sobrepostos da Fig. 3.XVI (a) e através do acompanhamento da intensidade da linha "fina" Fig. 3.XVI(b).

3.2 - Em Ressonância Paramagnética Eletrônica

Devido a reações pirolíticas produzem-se radicais livres no café durante o processo de torração (15). A presen

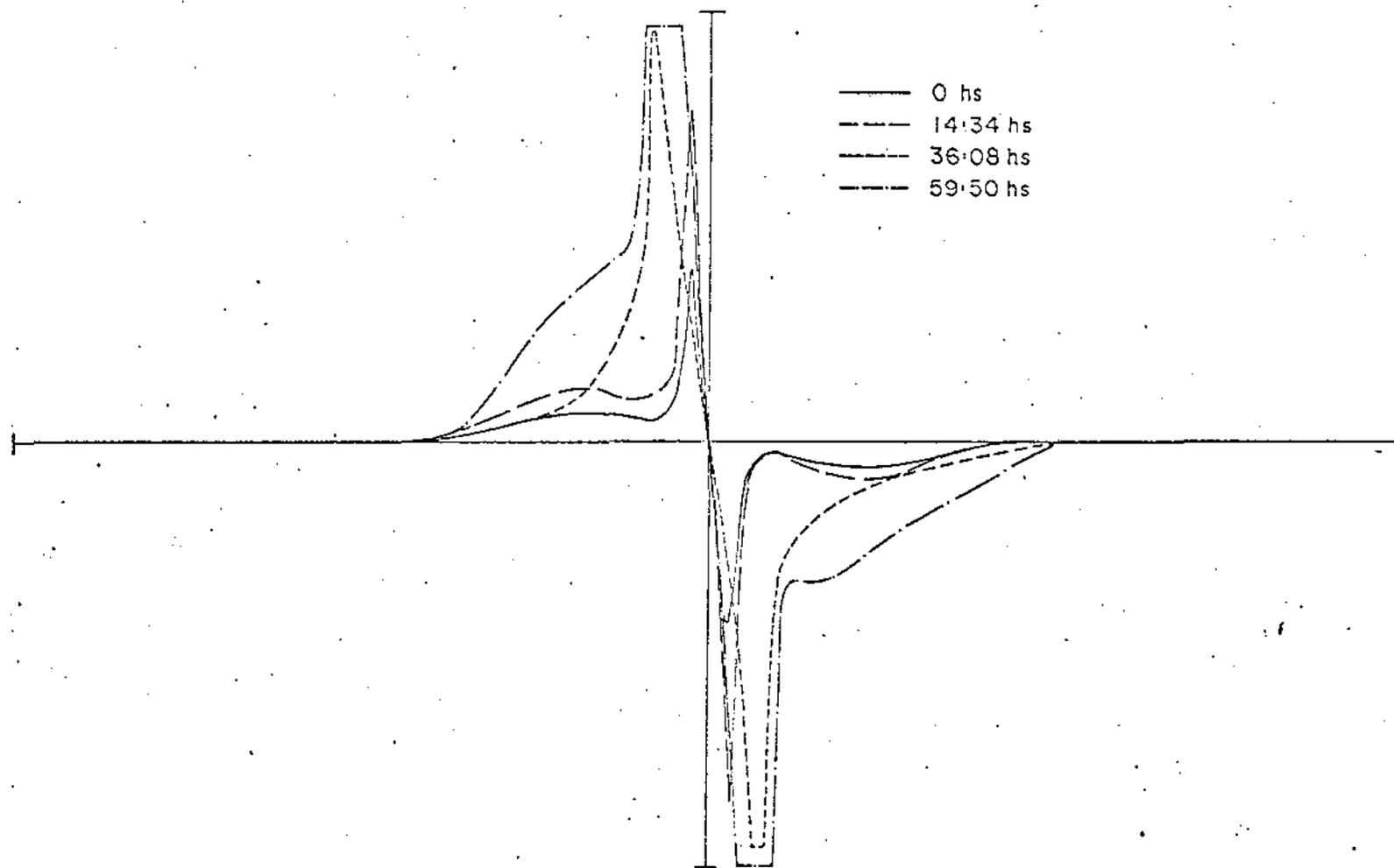


Fig. 3.XIII (a) Curva de Hidratação do Grão de Café Torrado

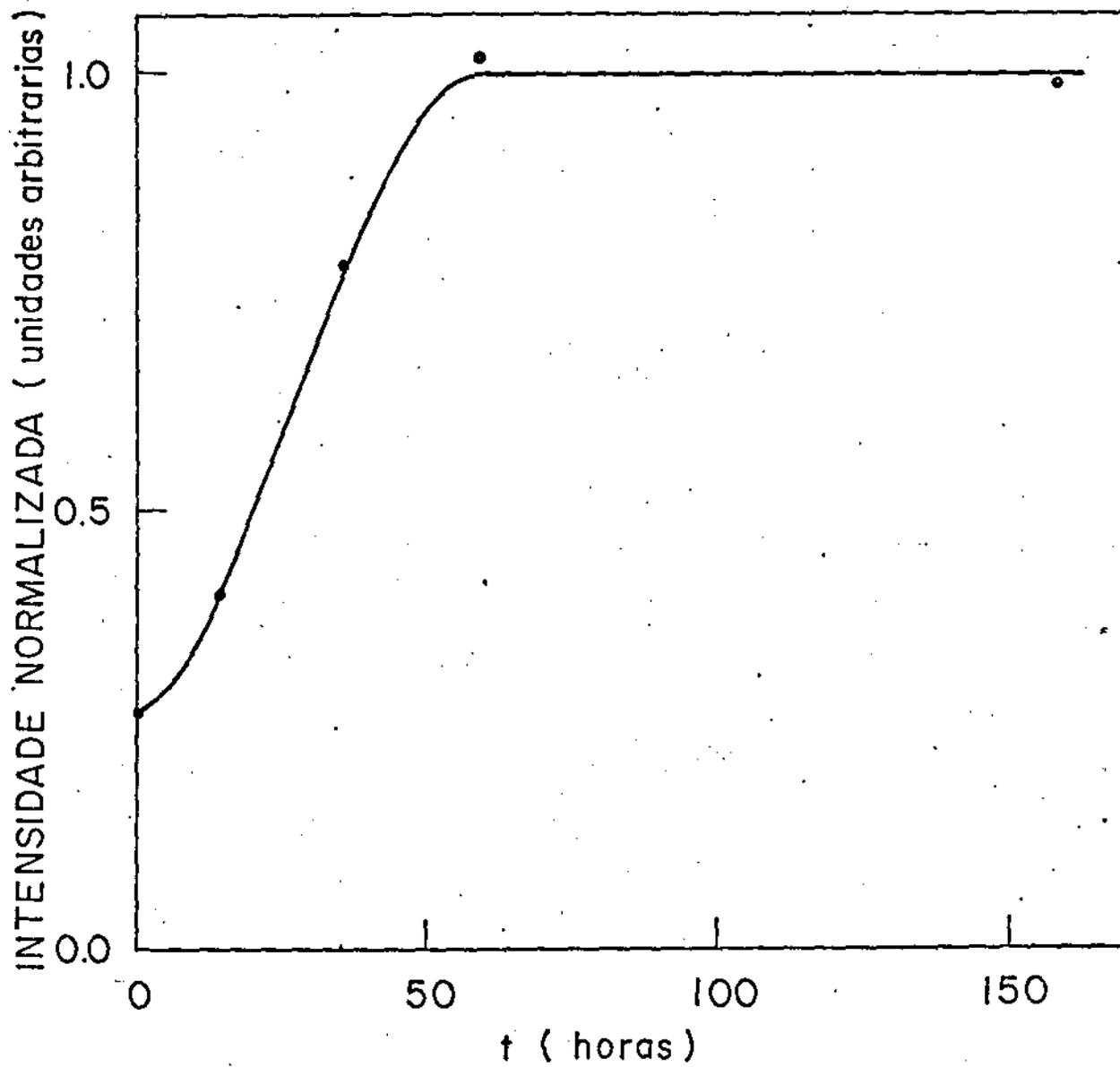


Fig. 3.XIII (b) - Intensidade da Linha "Fina" do Grão de Café Torrado durante a Hidratação

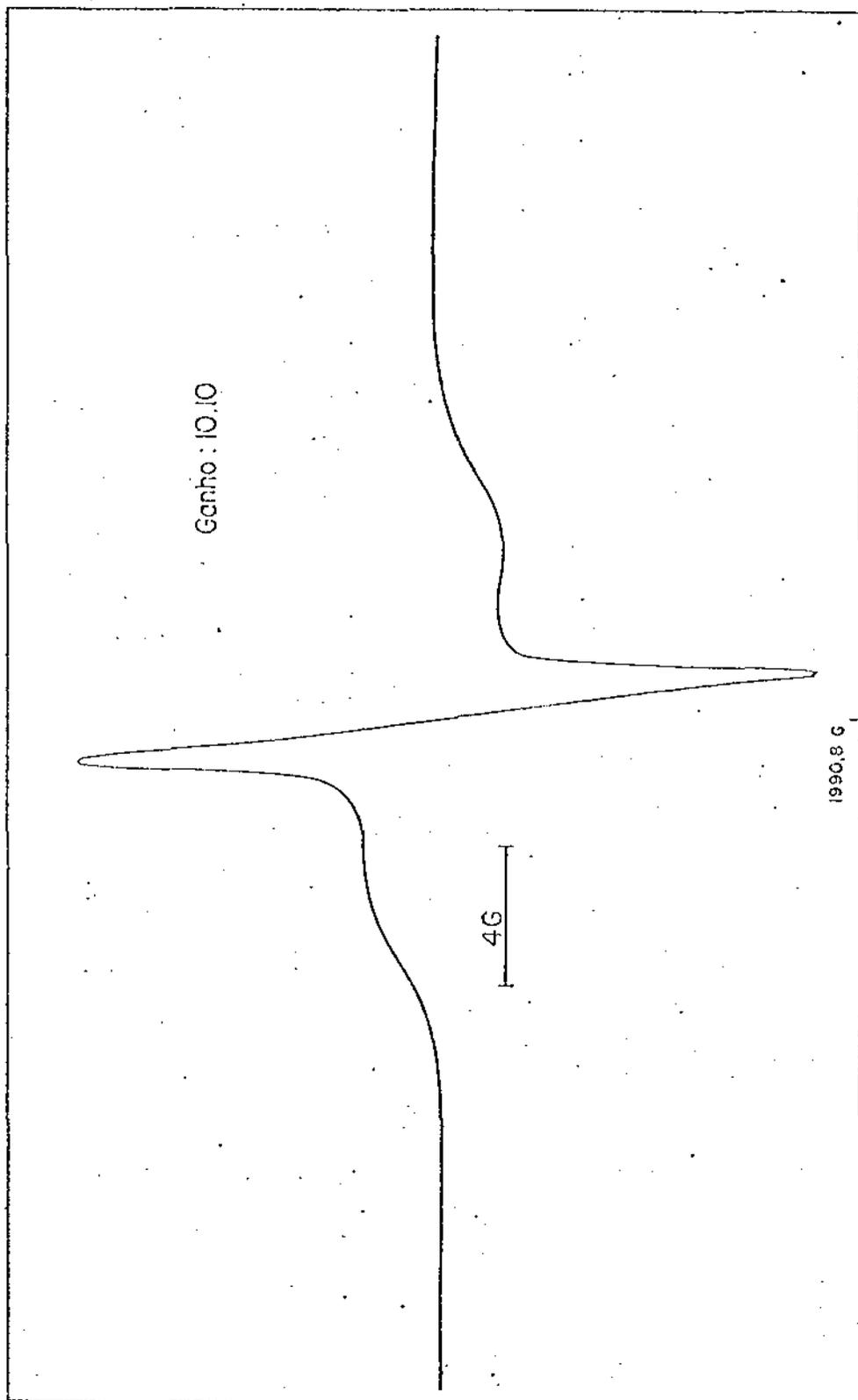


Fig. 3.XIV - Espectro Característico do Pó de Café Torrado

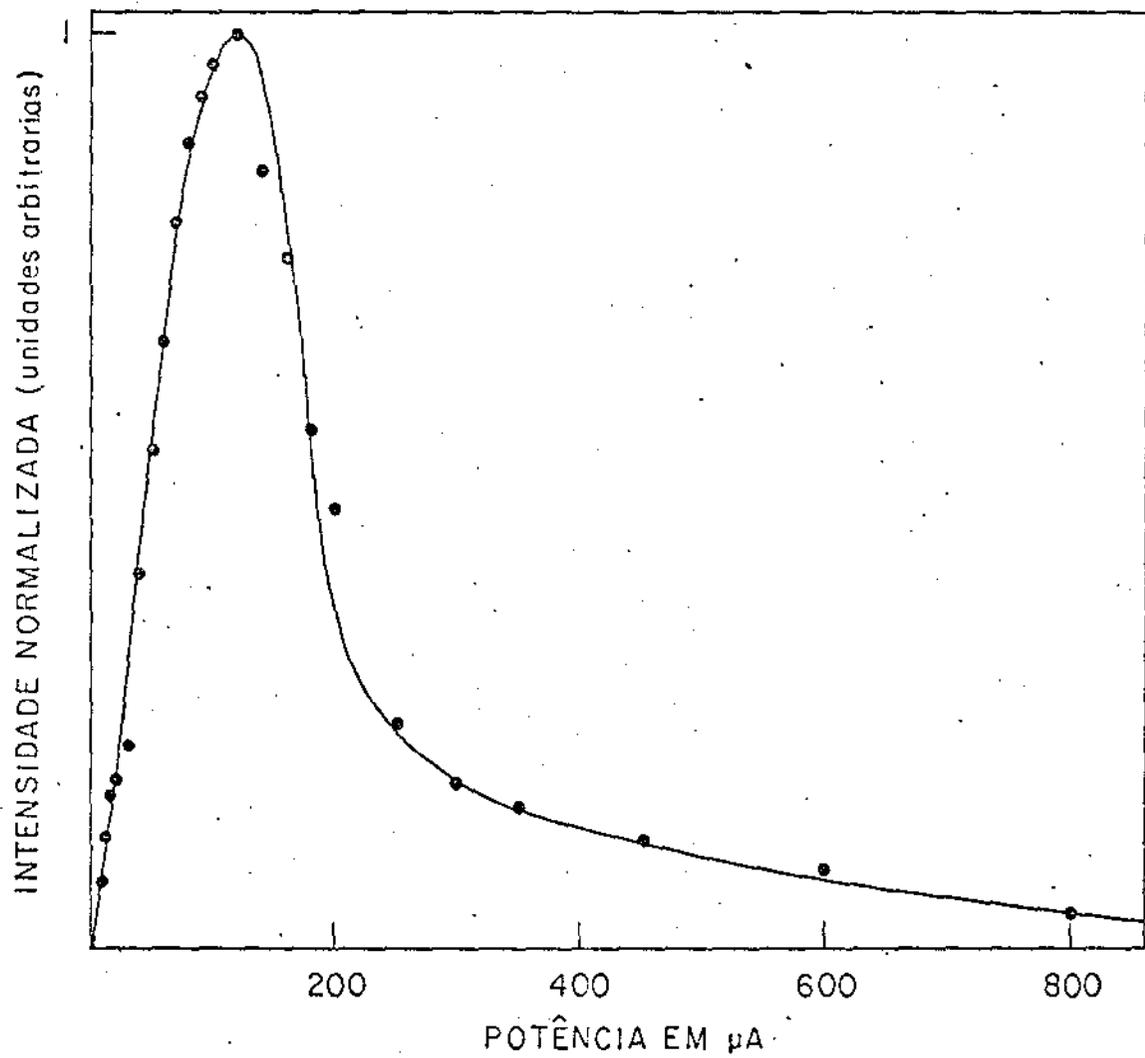


Fig. 3.XV (a) Saturação em Potência do Pó de Café Torrado (Linha "Larga")

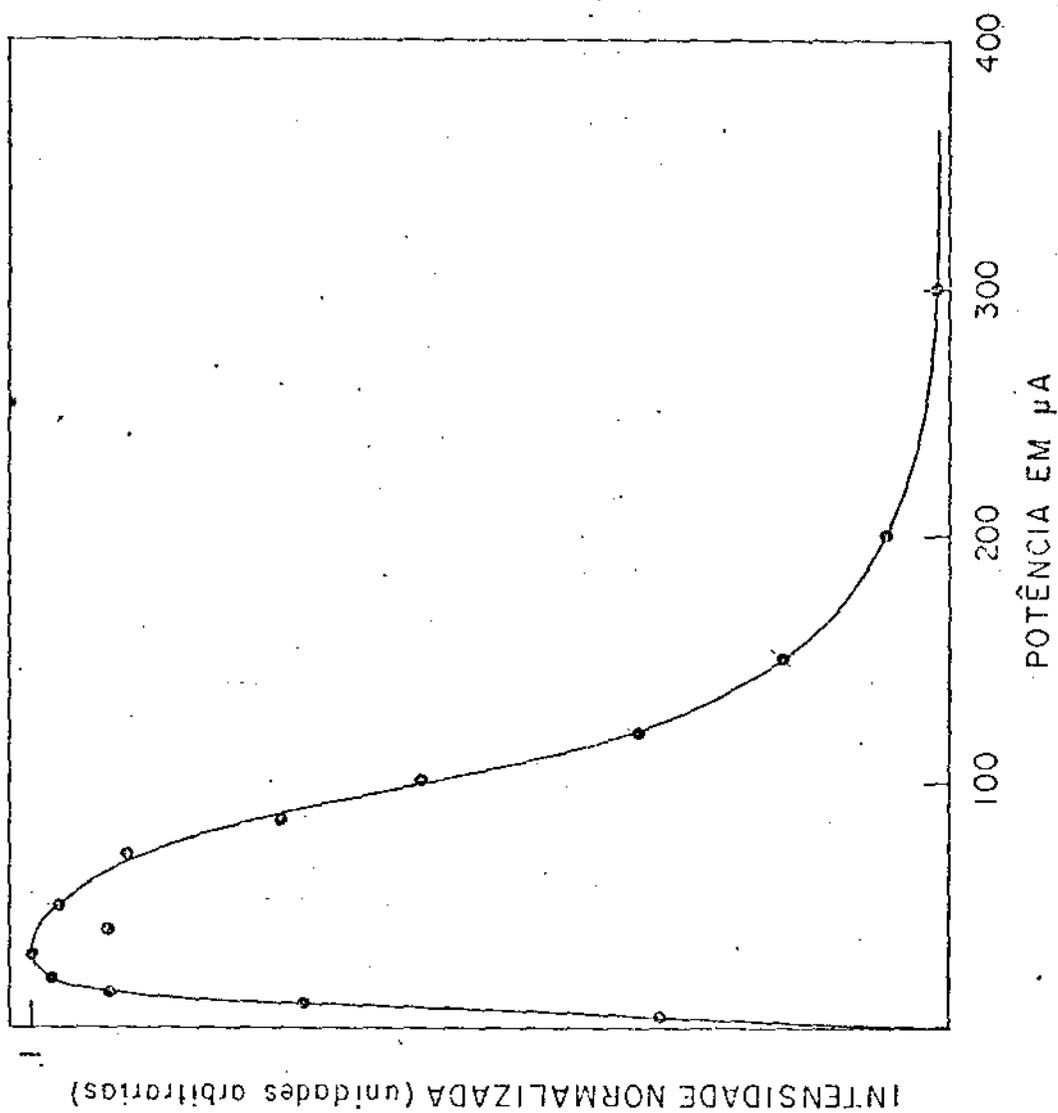


Fig. 3.XV (b) Saturação em Potência do Pó de Café Torrado (Linha "Fina")

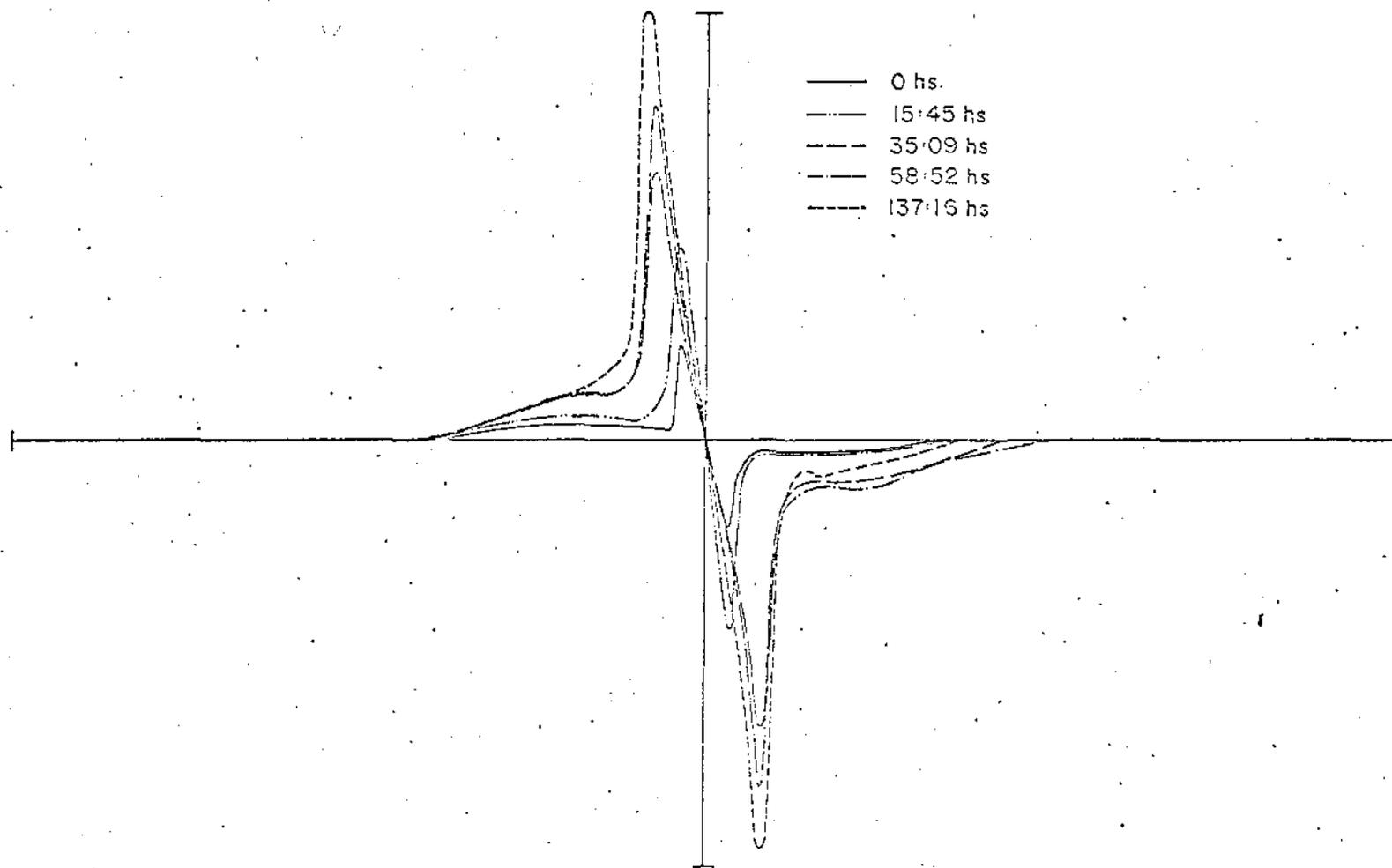


Fig. 3.XVI (a) Curva de Hidratação do Pó de Café Torrado

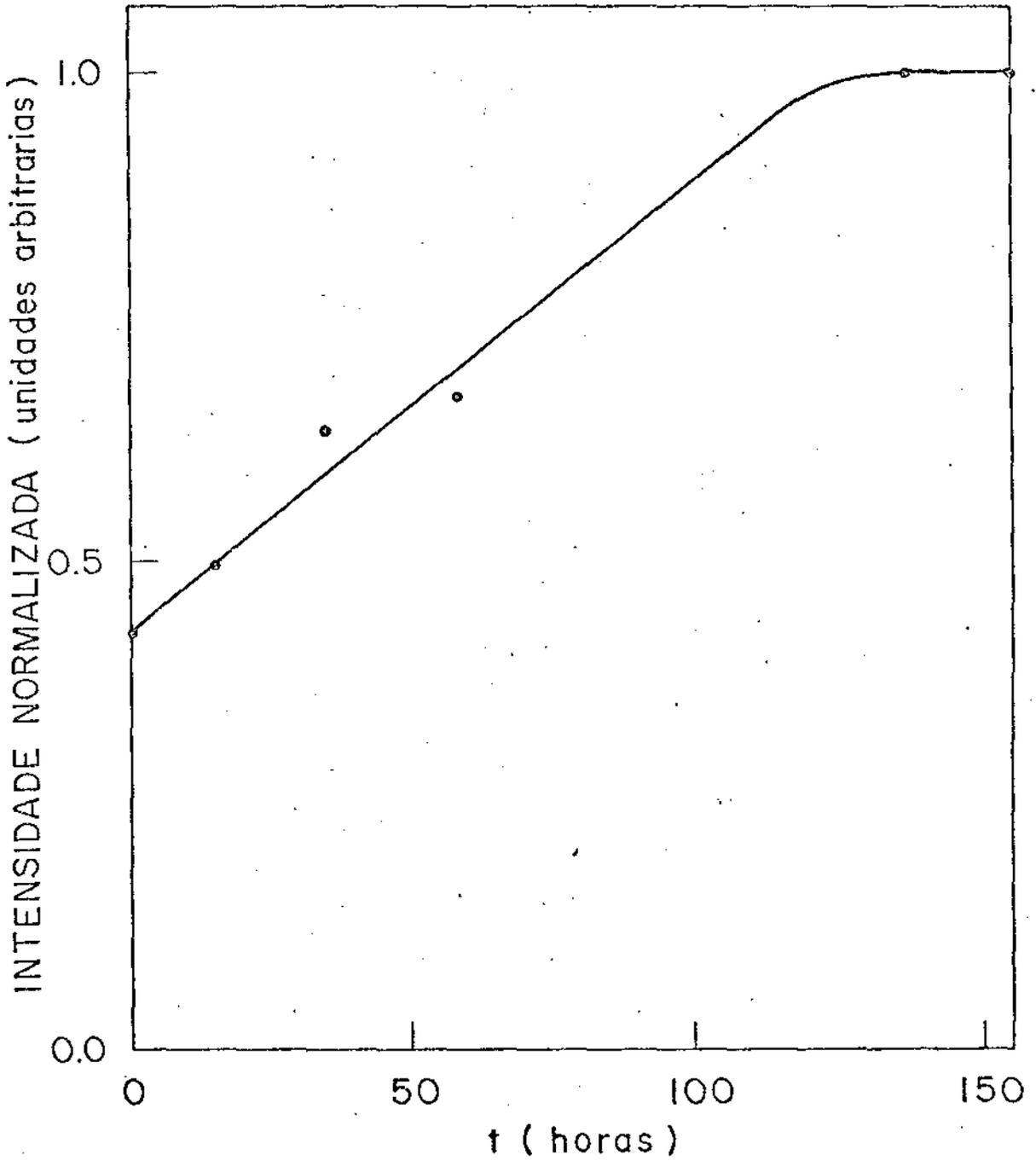


Fig. 3.XVI (b) Intensidade da Linha "Fina" do Pó de Café Torrado durante a Hidratação.

ça e a concentração de tais radicais é detectada pela RPE. Através desta informação é possível observar as mudanças das quais os radicais tomam parte. Uma delas seria a medida indireta da mobilidade da água pela taxa de recombinação de radicais livres (18). A mobilidade da água está diretamente relacionada com sua atividade que por sua vez pode atuar sobre os radicais livres que são responsáveis, em parte pelo aroma do café.

O objetivo desta seção é a apresentação do estudo da dependência da temperatura e do tempo de torração na criação de radicais livres e da umidade, luz e gases na recombinação dos mesmos.

3.2.1 - Espectro Característico e Fator-g

O espectro característico do radical livre formado no café torrado é apresentado na Fig. 3.XVII. Sua largura de linha é de aproximadamente 5 G e tem g medido de $2,0024 \pm 0,0005$.

3.2.2 - Influência do Tempo e da Temperatura de Torração na Criação de Radicais Livres

Dois parâmetros influenciam diretamente a formação de radicais livres: a temperatura e o tempo de torração. As curvas da Fig. 3.XVIII ilustram a dependência da concentração de radicais livres em função do tempo de torração para temperaturas de 210°C a 250°C . Elas foram traçadas a partir das intensidades pico a pico de espectro de RPE de amostras preparadas a diferentes tempos e temperaturas de torração. Obser-

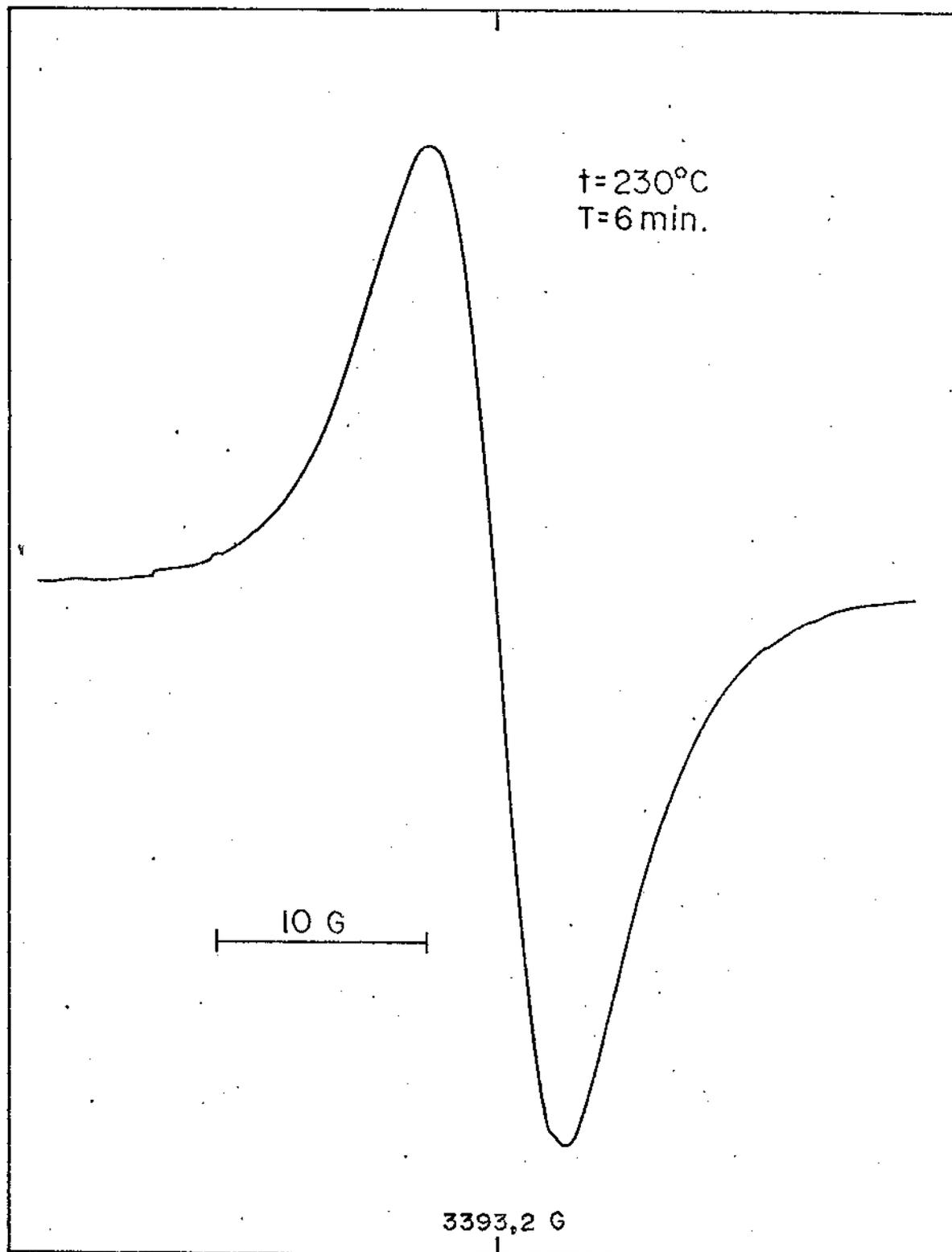


Fig. 3.XVII - Espectro Característico do Café Torrado (RPE)

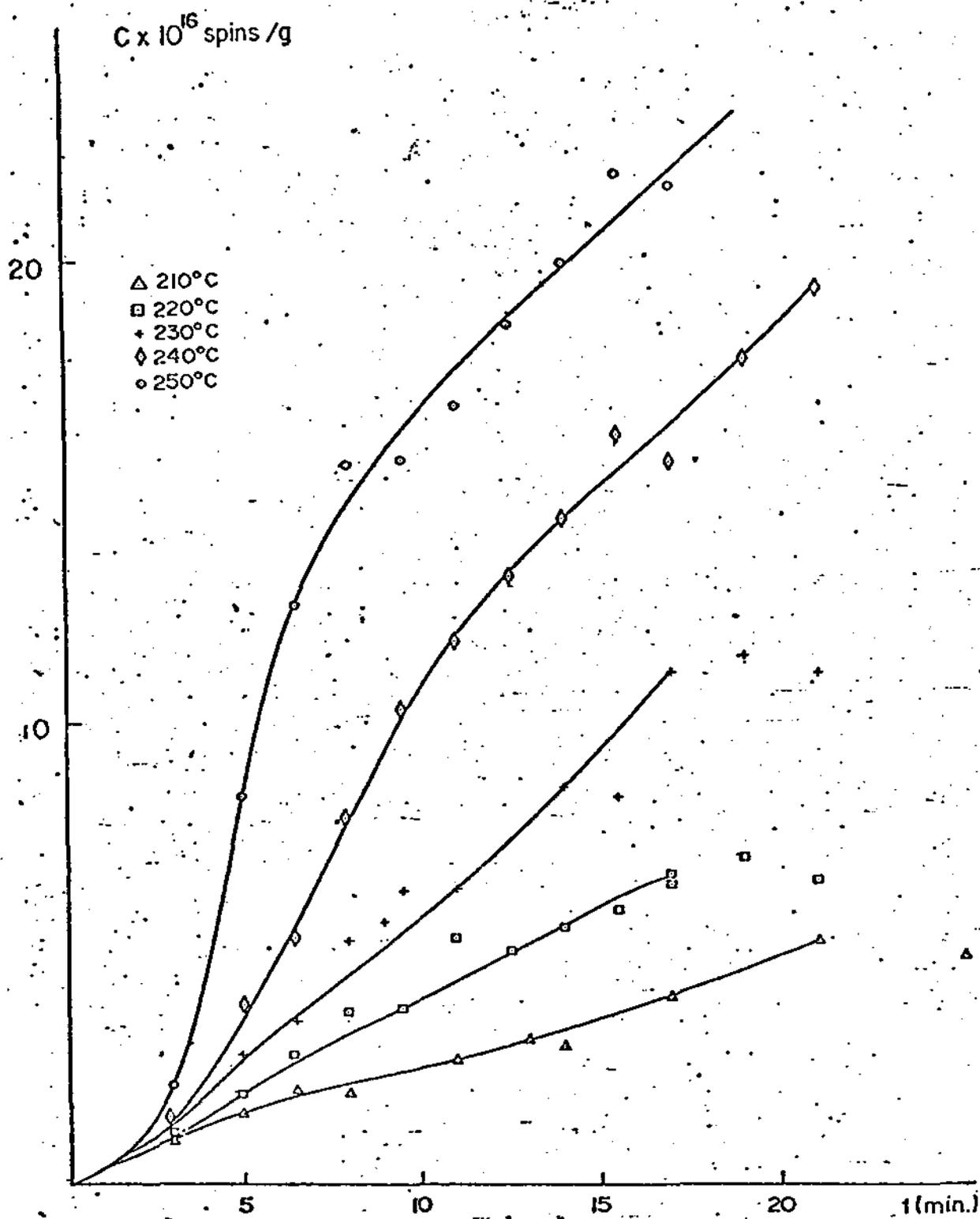


Fig. 3.XVIII - Curva Concentração de Radicais Livres vs. Tempo de Torração

va-se que a concentração de radicais livres é maior quanto maior for o tempo e/ou a temperatura de torração.

3.2.3 - Perda de Massa por Aquecimento

Ao preparar-se as amostras para a medida de concentração de radicais, após a torração, verificava-se também a perda de massa. As curvas indicativas da perda de massa por aquecimento são vistas na Fig. 3.XIX.

3.2.4 - Energia de Ativação e Fator de Frequência

Usando da seção 2.1.3, que a relação entre a concentração C de radicais livres e as variáveis de tempo e temperatura é dada por:

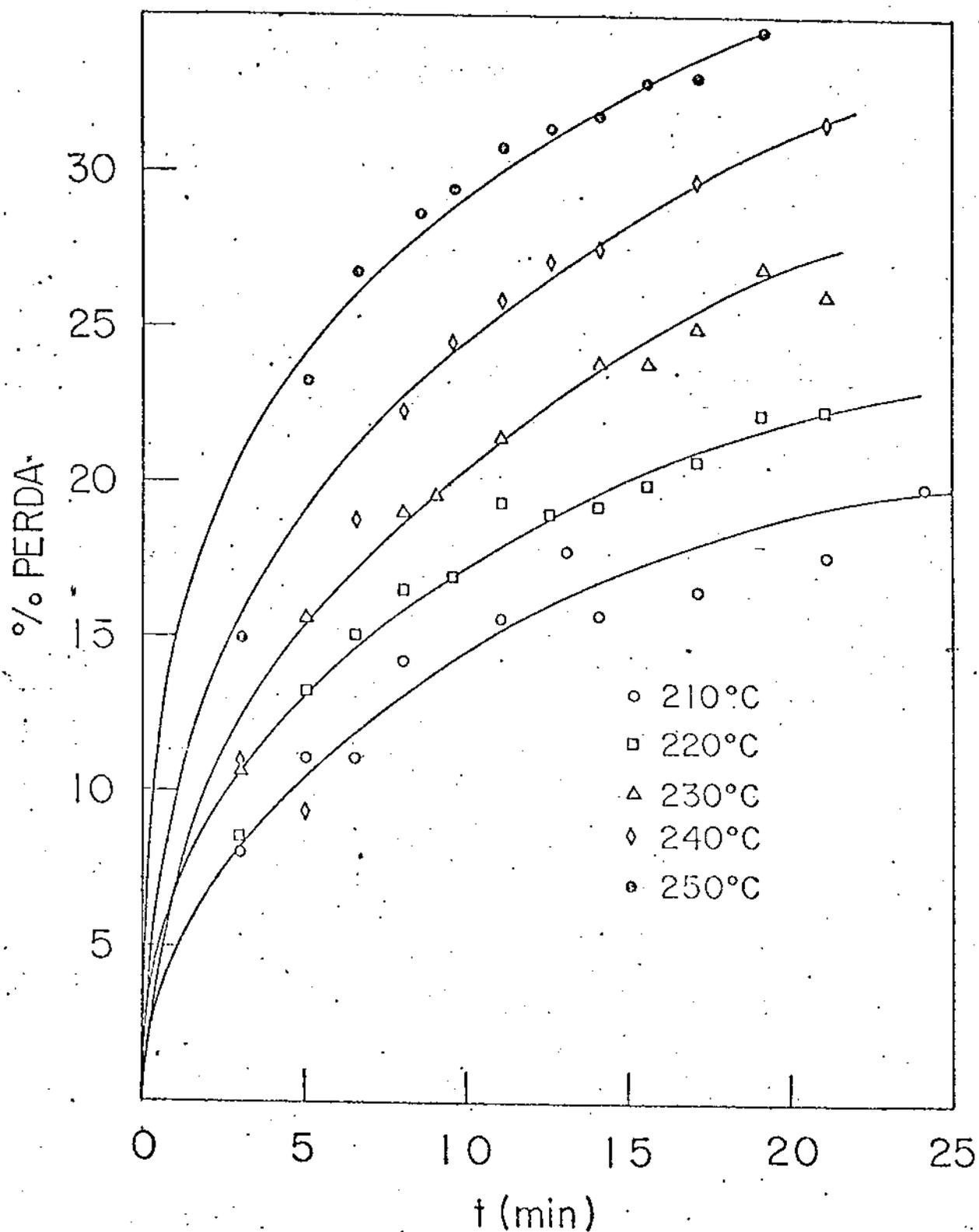
$$C = C_0 \exp \{K_0 t \exp (-E/kT)\}$$

com $C_0 = 10^{14}$ spins/g (41) e através das isócronas da Fig.3.XX pode-se obter as correspondentes energias de ativação de frequência de cada isócrona.

A energia de ativação é de cerca de 0,14 eV e o fator de frequência é da ordem de 10^{-2} s^{-1} .

3.2.5 - Influência da Luz, da Atmosfera (ar + umidade) e Gases (N_2 e O_2) sobre os Radicais durante o Armazenamento

A influência da luz e da atmosfera ambiental (ar + umidade) foi estudada juntamente com a ação de gases (N_2 e O_2) sobre os radicais livres na amostra. Durante a



PERDA DE MASSA POR AQUECIMENTO

Fig. 3.XIX - Curva Perda de Massa vs. Tempo de Torração

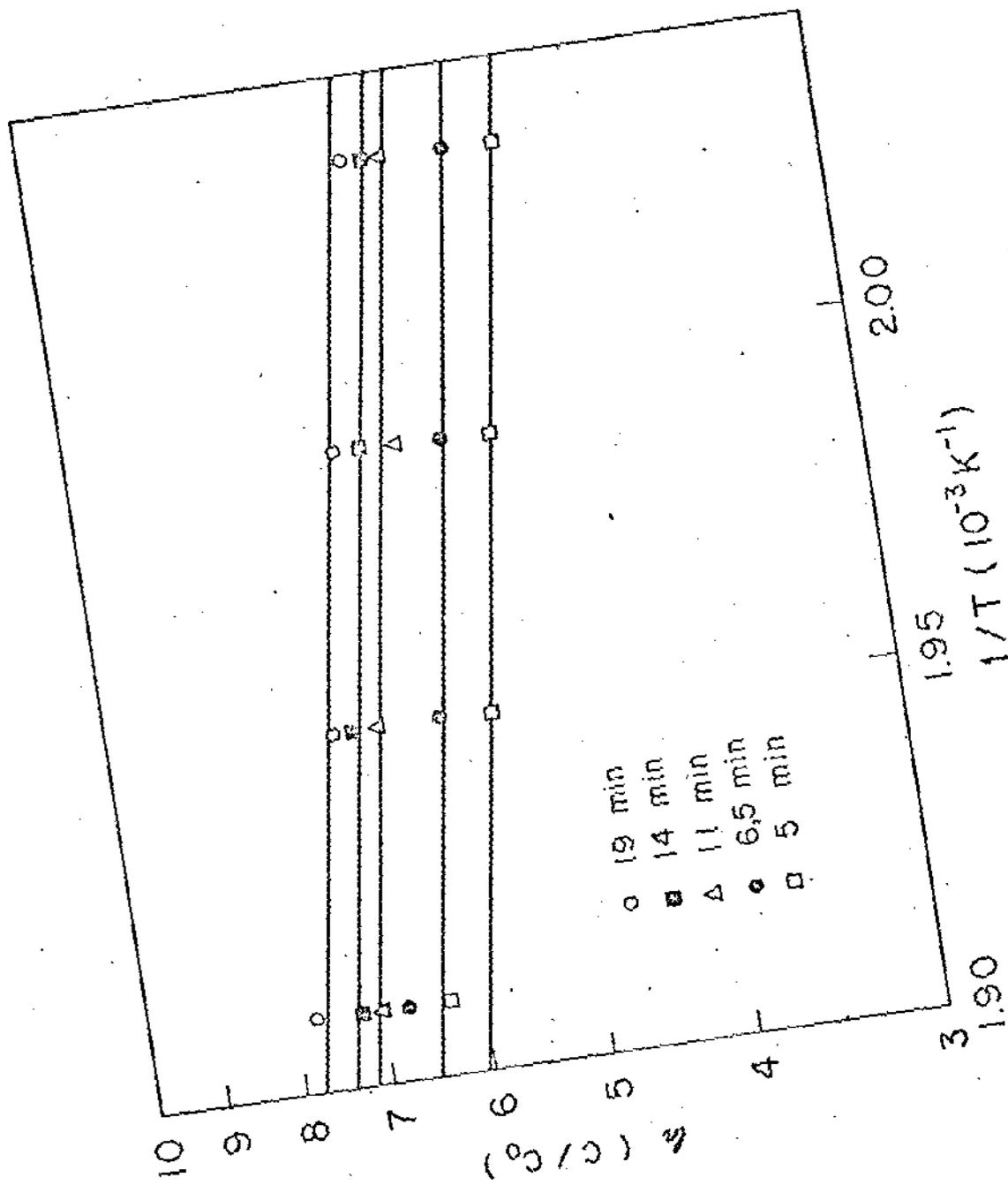


Fig. 3.XX - Curva $\ln(C/C_0)$ vs. $1/T$ (Isócronas)

torração são formados alguns gases no café e com o tempo eles são perdidos. Em contato com o ar, o café ao invés de perder peso, pela liberação de gases, tem seu peso aumentado pela absorção de água e oxigênio, o que pode acusar perda considerável de sua qualidade (21, 35 e 36). De maneira geral, carbonos pirolizados sob vácuo ou atmosfera de nitrogênio tem alta concentração de elétrons desemparelhados. Contudo, se oxigênio é admitido na amostra, a intensidade do sinal diminui conforme oxigênio difunde na amostra. A característica ímpar desse efeito é que se o oxigênio é bombeado da amostra o processo é "reversível" e o sinal inicial é reobtido conforme a amostra é evacuada.

Esse efeito deve ser de natureza física, ao invés de química, devido a alguma interação entre as propriedades magnéticas das moléculas de oxigênio e os elétrons desemparelhados na estrutura carbônica.

Existem dois mecanismos presentes: um processo de alargamento físico deve existir, o qual é associado com a absorção do oxigênio na superfície, e uma interação dipolar entre as moléculas de oxigênio e os elétrons desemparelhados. Ao mesmo tempo há também presente uma interação química, na qual um pareamento real de elétrons ocorre, reduzindo assim a absorção integrada, e isto não é reversível em vácuo (22,23,24).

Em contraposição a isto, deve ser lembrado que durante a torração as oxidações através de oxigênio do ar nenhum ou apenas um efeito secundário exerce, mesmo na torração sob nitrogênio o café torrado irá apresentar um aroma normal (32). Isto explicaria também as concentrações de radicais livres en

contradas por Hernández et al (8) para atmosferas de N_2 e O_2 durante a torração.

Uma suposição seria que mesmo sob atmosfera de N_2 , reações internas durante a torração do café liberariam o oxigênio, o qual seria imediatamente consumido na oxidação, con-temporizando estas duas afirmações ambíguas.

Distante desta discussão, no café a absorção de o-xigênio começa em cerca de 1,5 mmol/Kg/h. O aroma e o sabor do café torrado e moído em contato com o ar e a temperatura ambiente são afetados em 6 à 10 dias. Uma diminuição na temperatura aumentaria a durabilidade do produto (21).

a) Influência de Luz e Atmosfera (ar + umidade)

- Acompanhou-se o envelhecimento de amostras com o intuito de verificar as alterações induzidas por luz e atmosfera sobre os radicais, o que pode ser visto nas Figs. 3.XXI a 3.XXIV.

b) Influência de Gases

- Para melhor compreensão da influência que os gases tem sobre a concentração de radicais livres durante o armazenamento, foi feito o acompanhamento do envelhecimento de amostras sob atmosfera de O_2 e N_2 .

As amostras preparadas em câmaras secas, tiveram a atmosfera residual dentro do tubo trocada por gases N_2 e O_2 .

Isoladas da luz, as amostras tiveram o comporta-mento mostrado nas curvas das Fig. 3.XXV a 3.XXVIII.

INTENSIDADE NORMALIZADA (unidades arbitrárias)

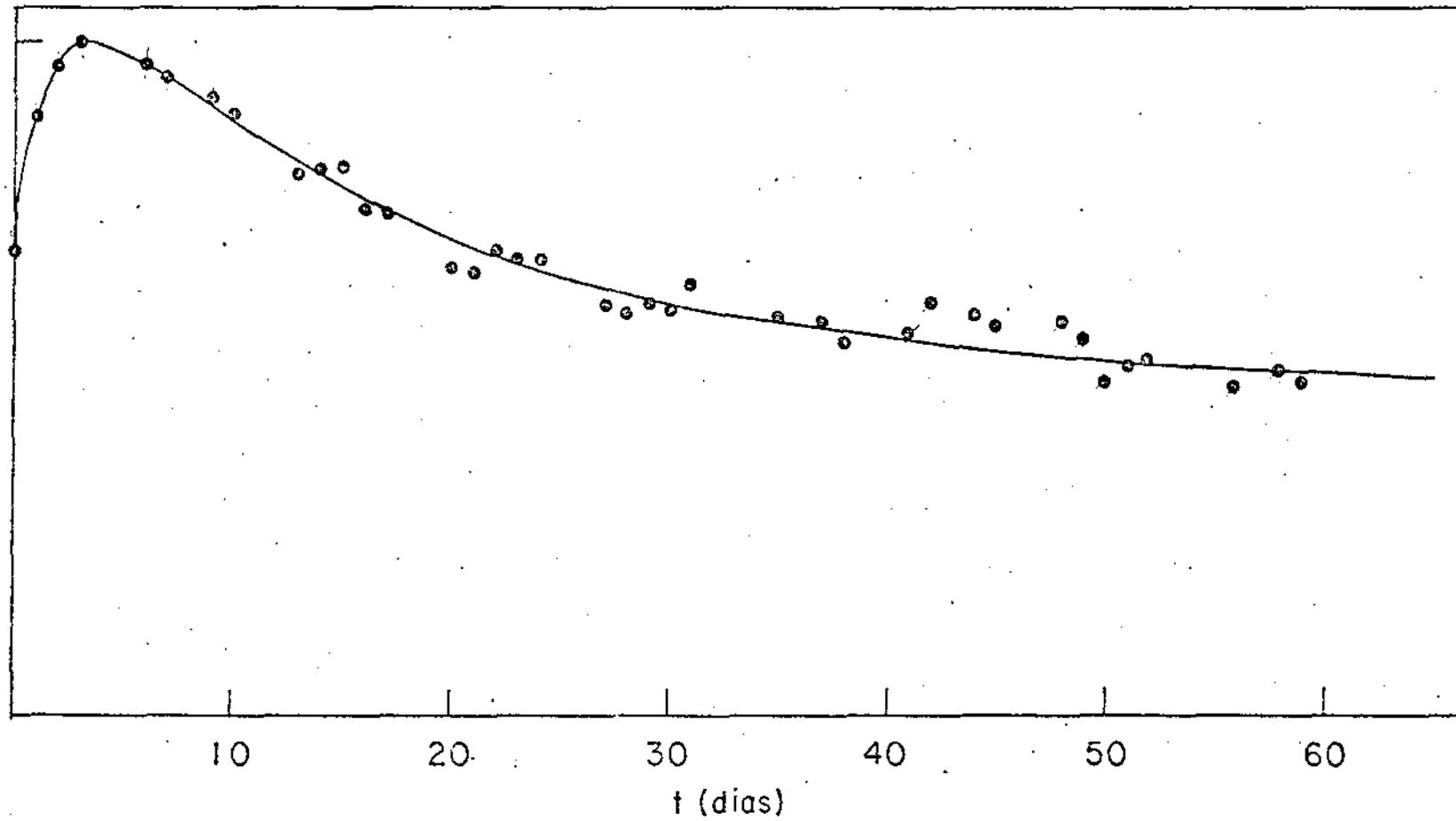


Fig. 3.XXI - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra sob Influência da Luz e da Atmosfera.

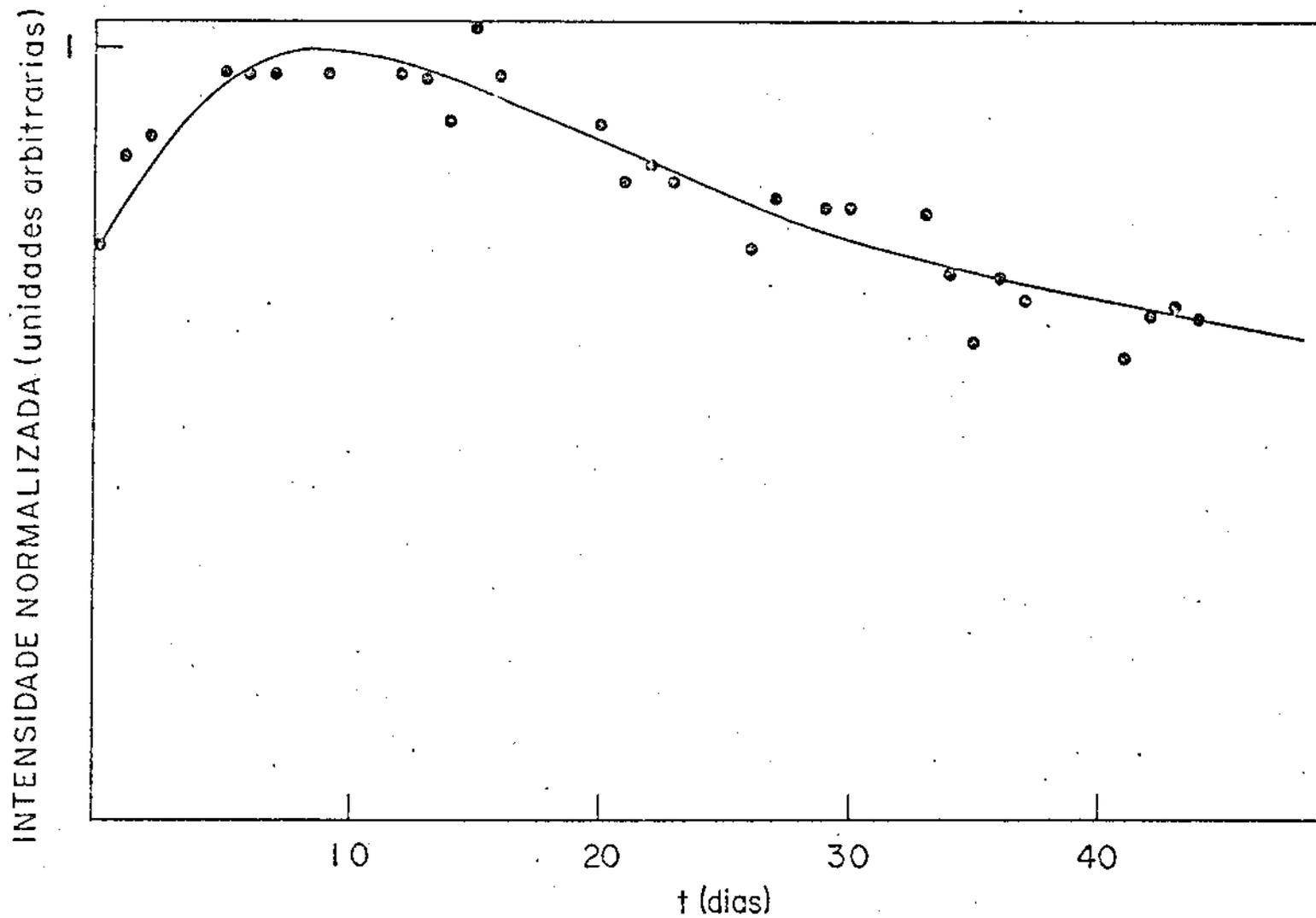


Fig. 3.XXII - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra Isolada da Luz e da Atmosfera.

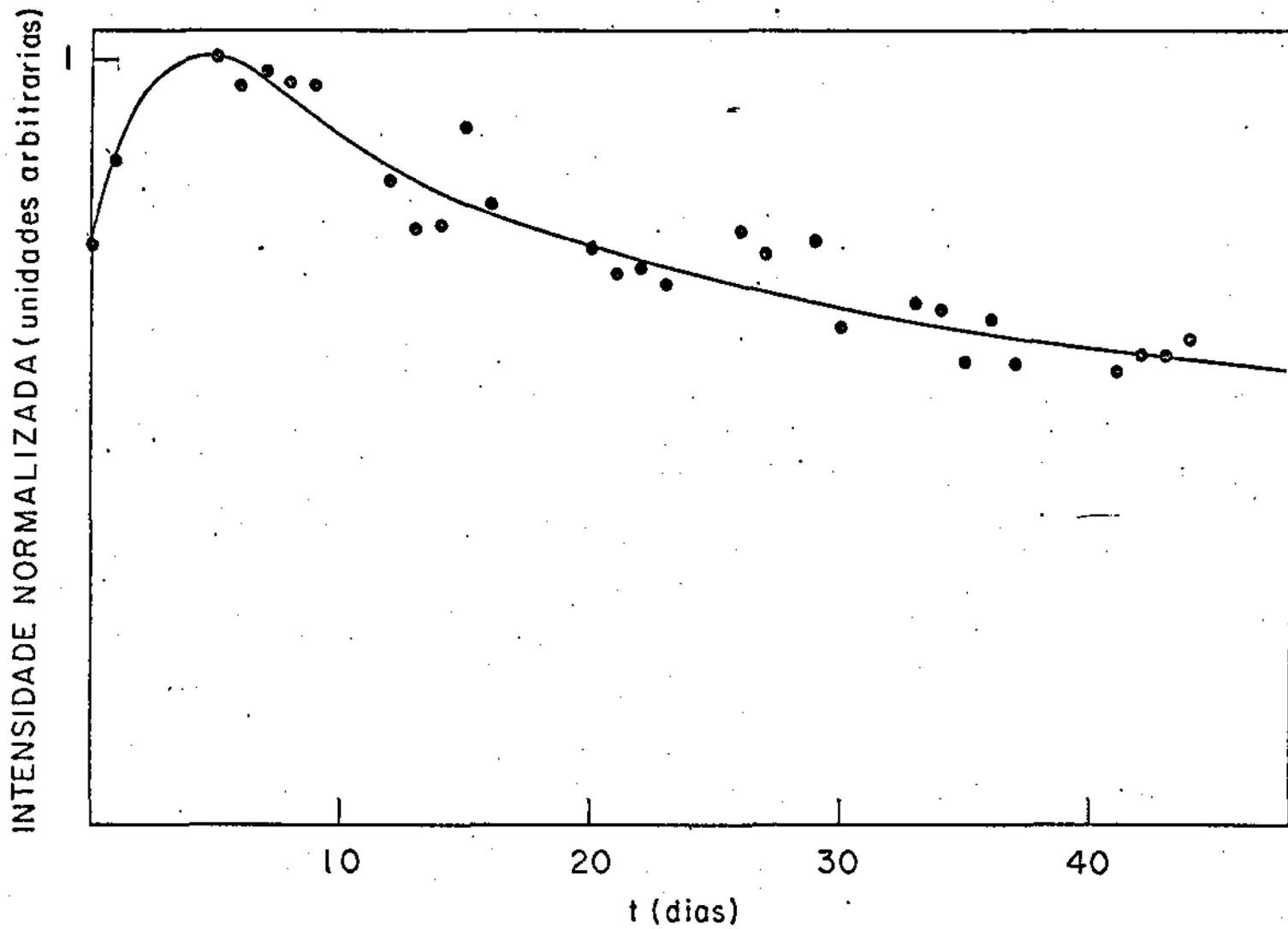


Fig. 3.XXIII - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra sob Influência da Luz, mas Isolada da Atmosfera.

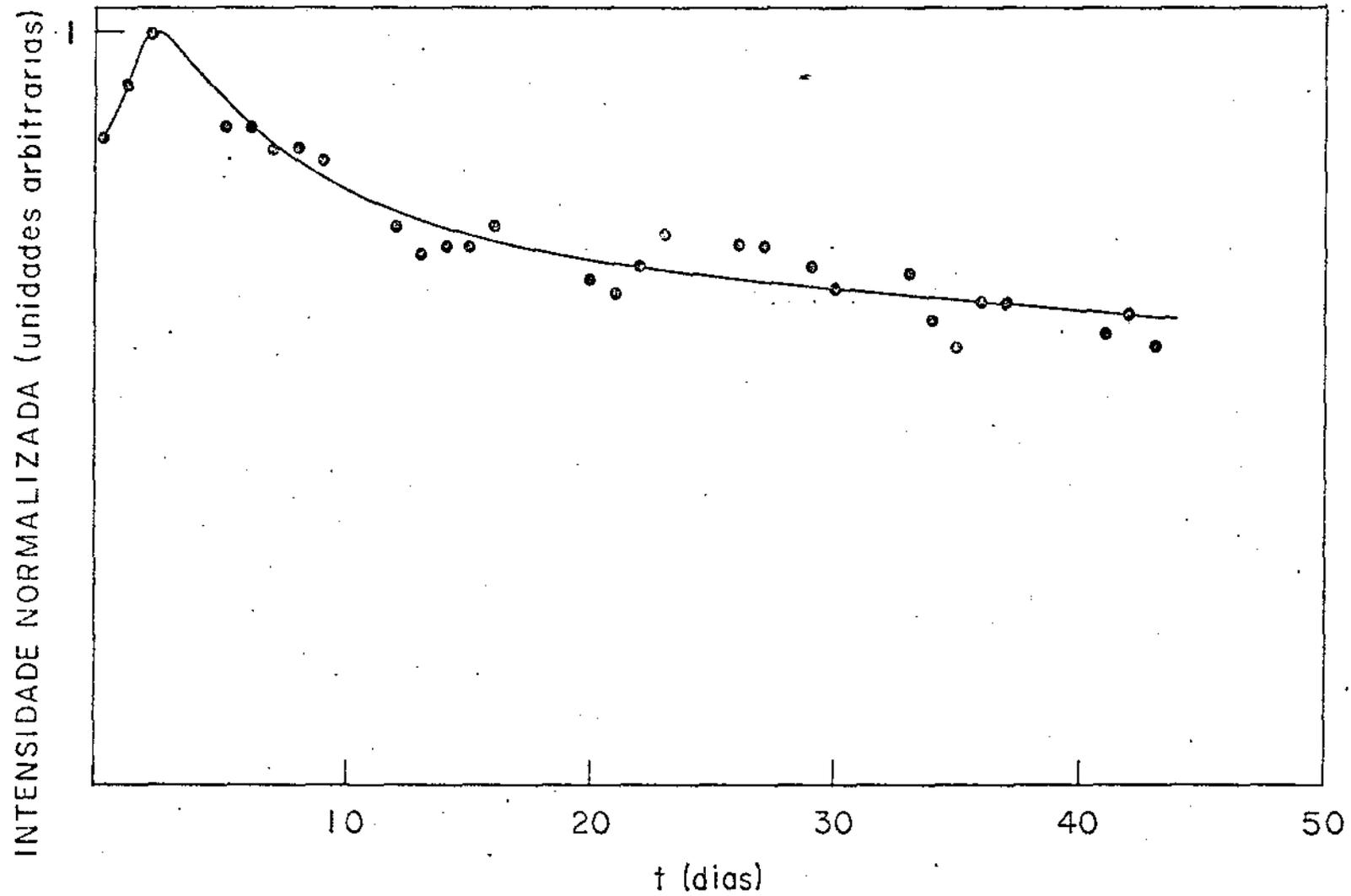


Fig. 3.XXIV - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra sob Influência da Atmosfera, mas Isolada da Luz.

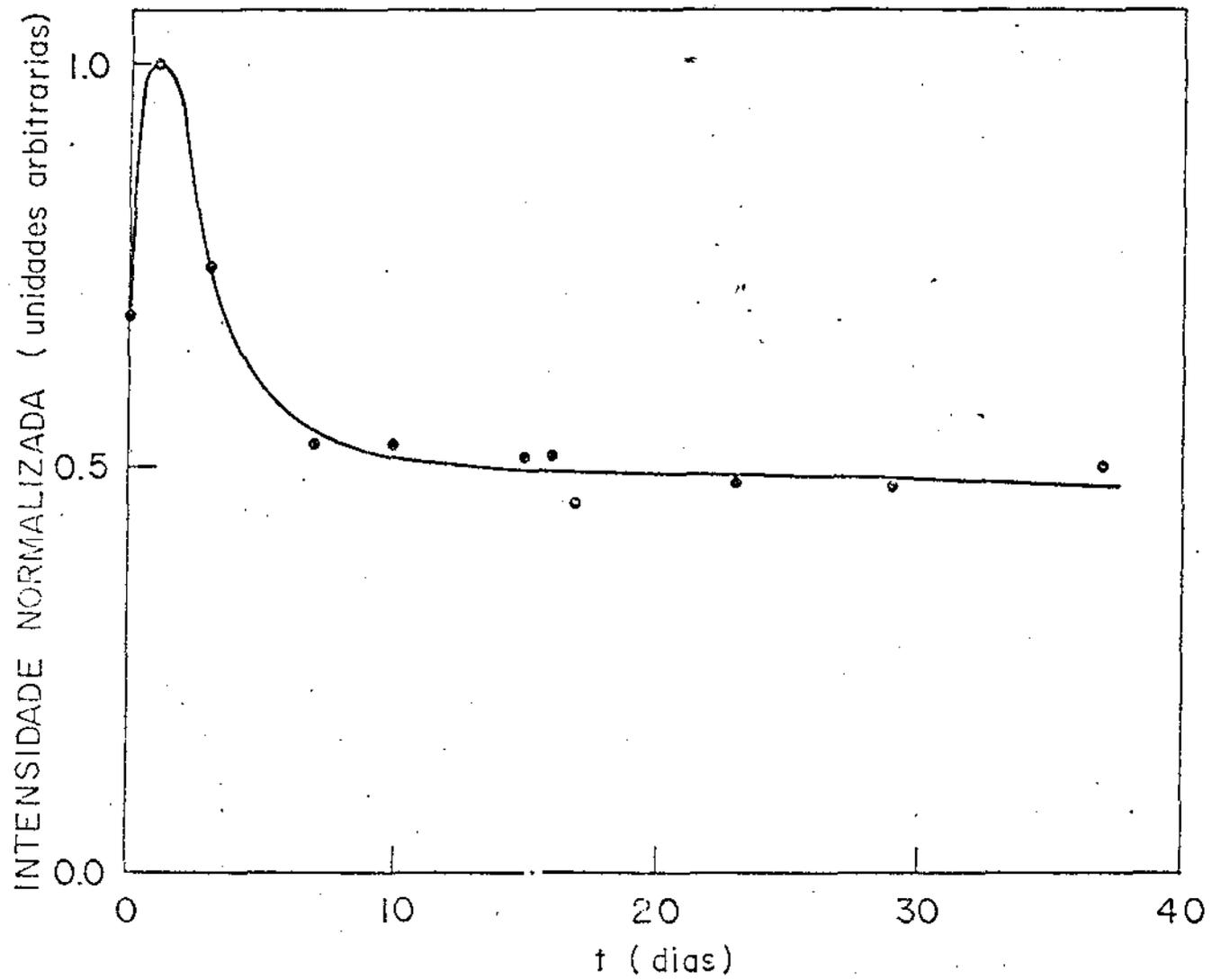


Fig. 3.XXV - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra Isolada da Influência da Luz e da Atmosfera.

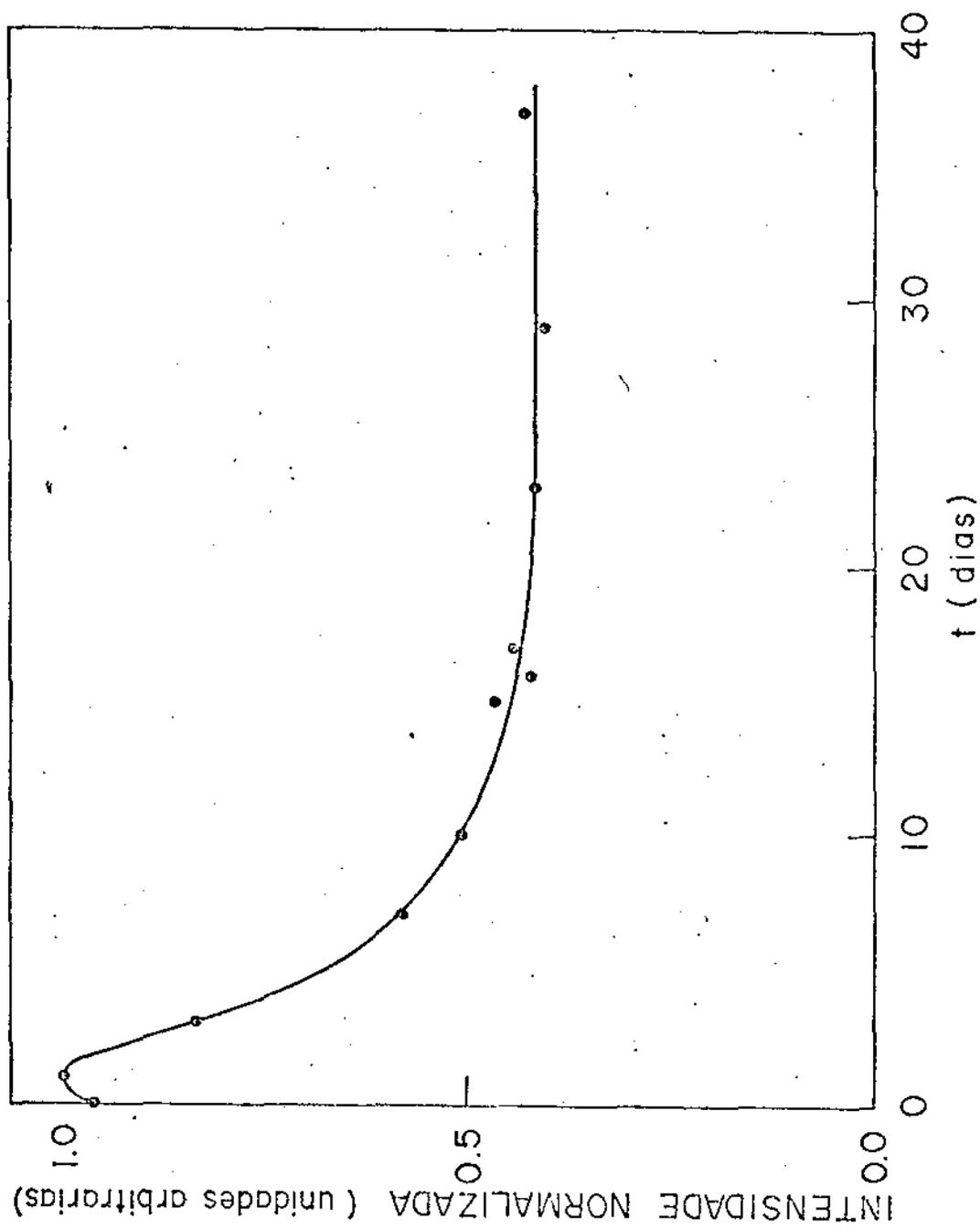


Fig. 3.XXVI - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra Isolada da Luz e em Atmosfera de N_2 .

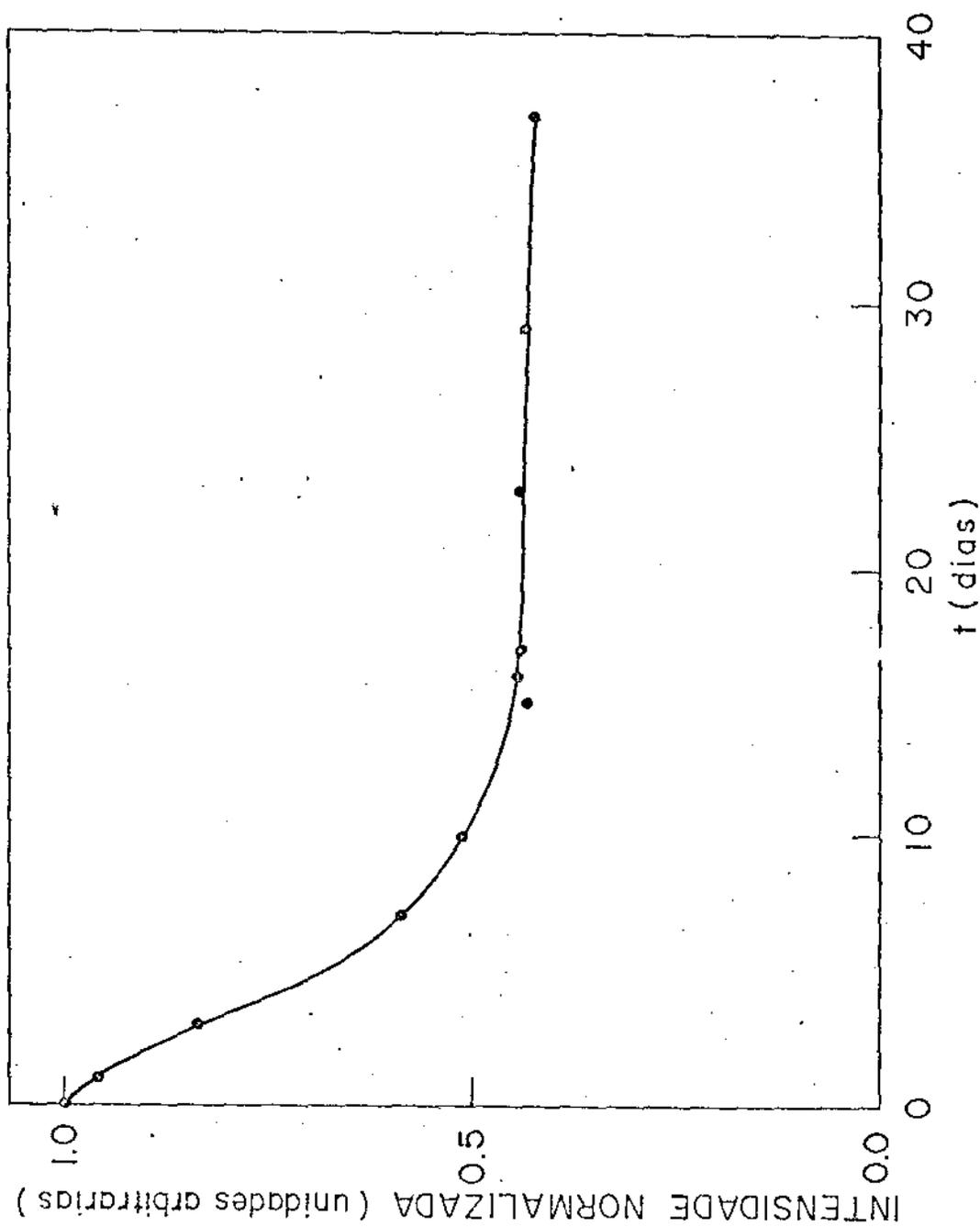


Fig. 3.XXVII - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra Isolada da luz e em Atmosfera de O_2 .

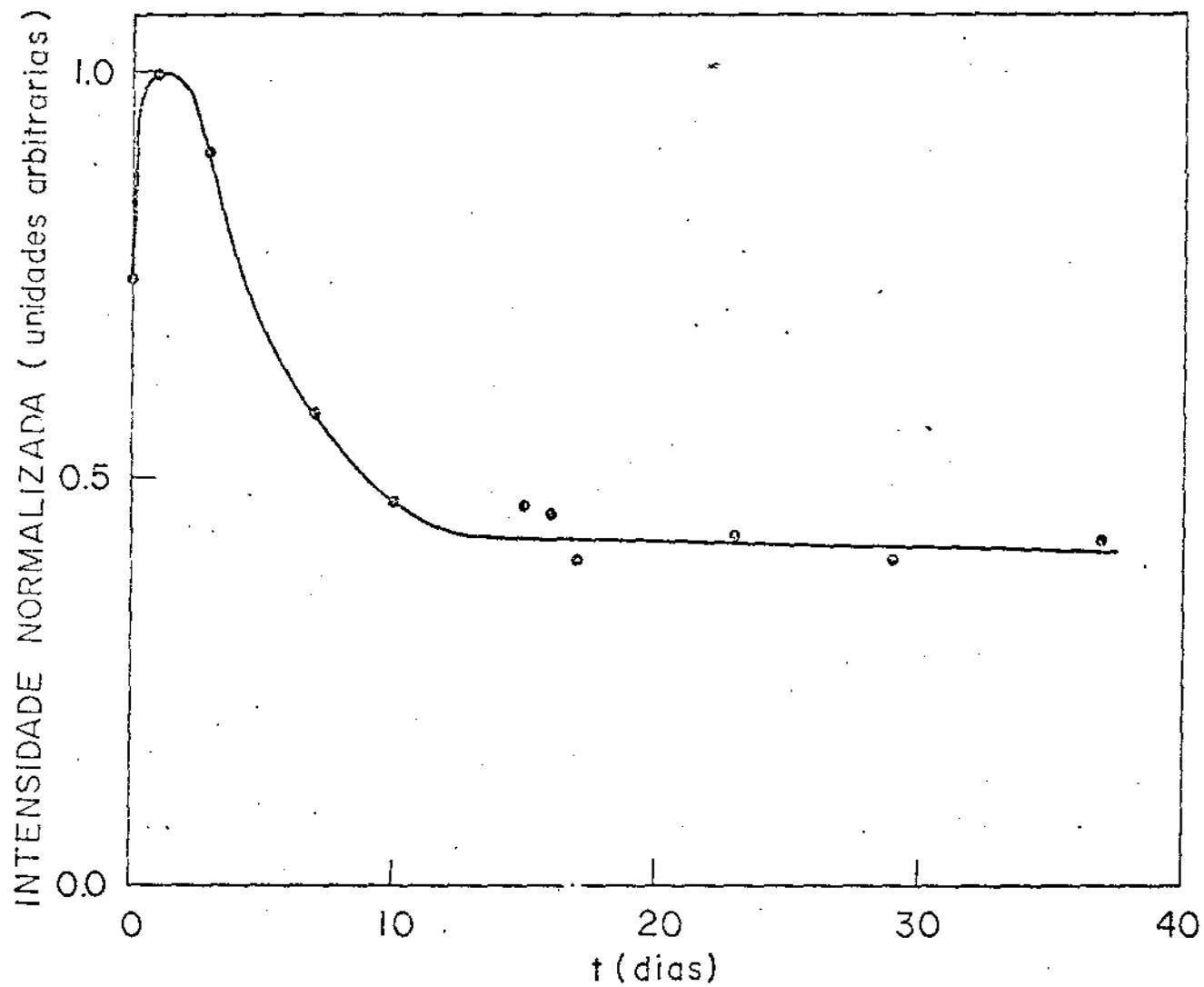


Fig. 3.XXVIII - Concentração de Radicais Livres em Função do Tempo. Amostra sob Influência da Luz e em atmosfera de N_2 .

CAPÍTULO IV

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 - Em RMN

a) O Espectro Característico

De maneira geral os quatro sistemas (grão crú, pó crú, grão torrado e pó de grão torrado) apresentam espectros semelhantes. Os processos de torração e moagem não alteram drasticamente a forma das curvas. Compostas de duas linhas bem definidas, a linha "larga" pode ser atribuída a moléculas fixas ou pouco móveis e a linha "fina" a moléculas de muita mobilidade (9).

Pela observação feita da diminuição da linha "fina" (seção 3.1.1.3) durante o aquecimento a 60°C em estufa, seria de se esperar que após a torração a linha "fina", tanto no grão como no pó, se apresentasse menor ainda. Contudo a linha apresenta-se de mesma intensidade, pois apesar da água e outros voláteis serem evaporados, as reações que ocorrem durante a torração quebram ligações de cadeias mais longas, e produzem moléculas mais móveis e até água (21,23).

Espectros semelhantes foram obtidos por Rodrigues et al (15) e Díaz et. al (19).

b) Saturação em Potência

As curvas de saturação, nos quatro sistemas, apresentam seus máximos e pontos próximos. Cerca de 30µA para a linha "fina" e aproximadamente 120µA para linha "larga".

Os processos aos quais o café foi submetido (torração e/ou moagem) não alteraram o ponto de saturação, mas notadamente alteraram o resto da curva, devido é claro a mudança da matriz que aloja os prótons (de hidrogênio) e também da quantidade e/ou variedade das substâncias existentes no café.

Uma comparação das curvas de saturação das Fig. 3.II (b), 3.III, 3.IX (b); 3.XII (b), 3.XV (b) além das curvas características das Fig. 3.IV (a) e (b) permite admitir que a linha "fina" do café (nos quatro sistemas) contém outros voláteis além do óleo.

c) Hidratação

As curvas de hidratação observadas nas Fig. 3.V, 3.VI, 3.X (a) e (b), 3.XVI (a) e (b) permitiram dividir os quatro sistemas em dois: grãos e pós (torrados ou crus).

Os pós tiveram um comportamento menos higroscópicos que os grãos, talvez por estarem compactados e suas superfícies de contacto estarem restritas pelo receptáculo usado para acondicioná-los na hidratação. A absorção da água, observada em parte pelo aumento da intensidade da linha "fina", mostra que nos pós este processo é mais lento. Os grãos apresentaram um aumento substancial na intensidade da linha "larga", enquanto os pós tiveram um crescimento mais discreto.

Em particular no grão cru de café, a intensidade da linha "fina" diminui após o aquecimento em estufa. Isto ocorre provavelmente devido a uma reação endotérmica do grão, que se inicia à uma temperatura de cerca de 60°C , atinge um máximo a 150°C e diminui a seguir. Nesse ínterim ocorre princi-

palmente a perda de água e possivelmente também a destruição de açúcares e hemicelulose (32, 37, 39). Quando começa a hidratação o sinal aumenta até a deterioração do café. A destruição do grão pode ser causada por processos enzimáticos, químicos e microbiológicos (15.32, 40).

Pelos gráficos observa-se que durante a hidratação, a água se aloja tanto em sítios de maior como de menor energia (linha "larga" e "fina" respectivamente).

Os resultados acima mostram a aplicabilidade da RMN no estudo da conservação. A quantidade de água existente no café depende da umidade ambiental (vide Fig. 4.I, grão crú em específico). No café, a água é de fundamental importância para sua conservação (9). Se o teor de umidade for baixo, há uma perda no valor nutritivo, além do grão desenvolver menor quantidade de aroma durante a torração. Se o teor for alto, pode haver um favorecimento na degradação do grão (20).

d) Maturação

O gráfico da Fig. 3.VII permite concluir que grãos mais maduros apresentam uma concentração maior de moléculas mais móveis.

4.2 - Em RPE

a) Espectro Característico e fator-g

Os resultados obtidos são comparáveis à literatura (2,5,8,16,22,23,24,25).

A característica essencial do espectro de RPE em

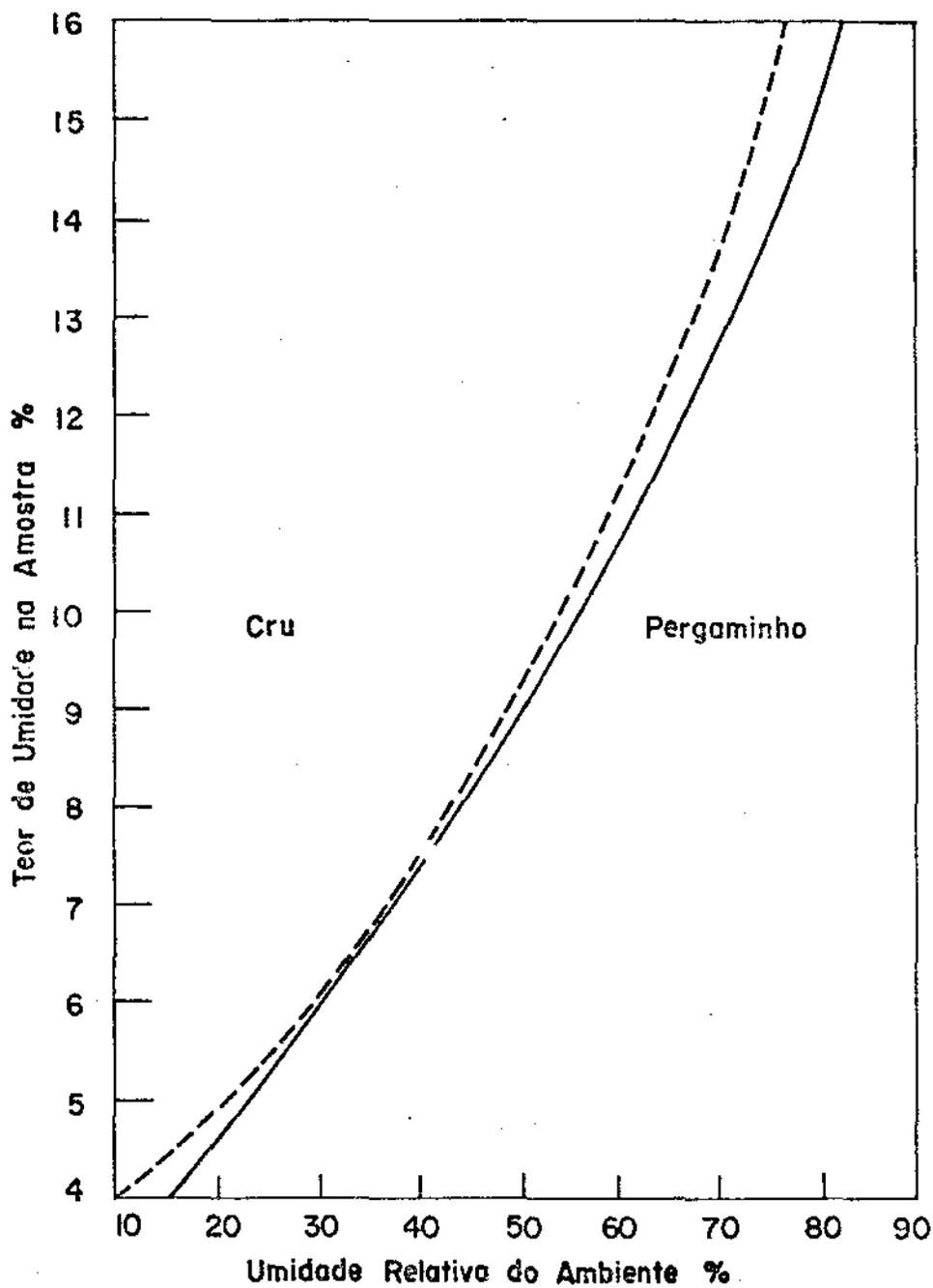


Fig. 4.I - Teor de Umidade no Grão em Função da Umidade Ambiental

radicais livres é que o fator g é muito próximo do valor para o elétron livre $g_{\text{spin}} = 2,0023$, isto é, está presente puro magnetismo de spin. Portanto, para radicais livres comuns de origem orgânica, contendo apenas átomos de C, O, H e N, o desvio em relação ao valor para o elétron livre não deve exceder 0,002-0,003.

As características do espectro observado são semelhantes a de outros cafés pesquisados na literatura (8,15,16).

Outra confirmação sobre a criação de radicais livres no café foi obtida através de irradiação por raios-X. Apesar da pequena concentração observada, o fator g era muito próximo, constatando assim ser o sinal obtido por pirólise, o de radicais livres, já que a criação de radicais livres por irradiação é muito conhecida.

b) Influência do Tempo e da Temperatura de Torração

Estes fatores influenciam diretamente a concentração de radicais livres e a perda de massa.

Assim como a concentração de radicais, a perda de massa aumenta com o aumento do tempo e/ou da temperatura de aquecimento. Assim, quanto maior é a perda de massa (água + voláteis) maior é a quantidade de radicais livres criados. Aqui, seria muito tentador relacionar a linha "fina" da RMN (vide Fig. 3.VI) com a perda de massa, mas deve-se considerar que durante a torração ocorrem as reações de Maillard. Elas são responsáveis por produtos coloridos de alto peso molecular (melanoidinas) e liberam ao mesmo tempo componentes heterocíclicos voláteis, que exercem um papel de substâncias aromáti-

cas. Assim, um relacionamento direto entre a curva da perda de massa e os espectros de RMN torna-se difícil. Contudo, um estudo da Fig. 4.II, onde se apresentam as parcelas de melanoïdinas, polissacarídeos solúveis e holocelulose em função dos diferentes tipos de torração, indo da torração normal à torração mais escura (expresso), encontradas na borra de café, permite admitir que quanto maior é o grau de torração (maior perda de massa), menor será a linha "larga" (holocelulose, hidrogênio estrutural entre outros) o que seria detectável em RMN. Desta forma, o mecanismo de perda de massa poderia ser descrito como uma evaporação de água + voláteis (linha "fina" em RMN), acompanhada pelas reações de Maillard que as substituiriam a despeito do consumo de estruturas carbônicas maiores (linha "larga" em RMN).

c) Energia de Ativação e Fator de Frequência

A energia de ativação obtida através do coeficiente angular das isócronas da Fig. 3.XX situou-se próximo aos valores obtidos para a produção de radicais livres em outras matrizes diferentes da do café. O fator de frequência situou-se em valores bem menores do que encontrados em matrizes cristalinas, contudo tanto o fator de frequência como a energia de ativação encontradas para o café são confirmados pela literatura (8,41).

d) Influência da Luz, da Atmosfera (ar + umidade) e Gases (N₂ e O₂)

Os gráficos da Fig. 3.XXI a 3.XXVIII mostram os

COMPOSIÇÃO DA BORRA DE CAFÉ

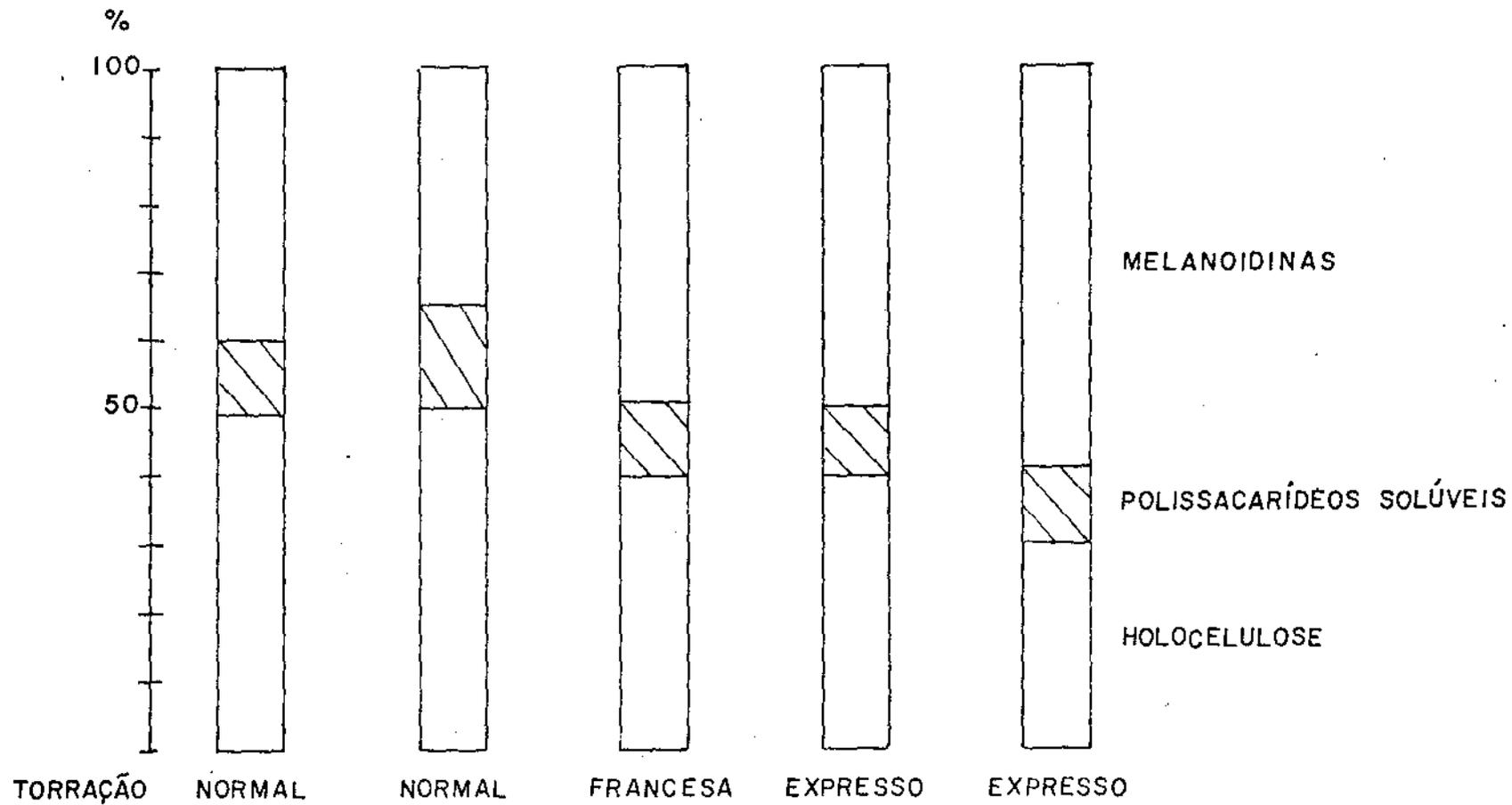


Fig. 4.11 - Composição da Borra de Café para Diferentes Graus de Torração

resultados obtidos das observações das amostras sujeitas as condições descritas em 3.2.5 (a) e (b). A experiência foi dividida em dois grupos: a influência de luz e atmosfera, e a influência de gases. Para termos uma referência, para cada um dos grupos, foi acompanhada uma amostra com atmosfera (ar + umidade) e protegida da luz..

De maneira geral as curvas tem comportamentos semelhantes. Uma ascensão inicial e depois um decaimento lento.

No primeiro grupo houve maior conservação do número de radicais livres para a amostra isolada de luz e umidade, e uma maior recombinação quando só sob influência da atmosfera.

No segundo grupo os decaimentos foram rápidos indicando possivelmente um teor maior de umidade adquirido no intervalo de preparação das amostras. Não foram observadas diferenças marcantes entre os gases usados e a atmosfera (ar + umidade) sobre as amostras. A luz não pareceu exercer um efeito mais nítido como no primeiro grupo e a curva da ação do oxigênio só apresenta decaimento.

De todas estas informações, extrai-se que o efeito mais danoso é provocado pela umidade, e embora algumas amostras estejam lacradas, há uma umidade residual no ar dentro do tubo e principalmente na própria amostra que é altamente higroscópica e vai absorvendo umidade durante a fase de preparação.

A luz pode criar radicais mas seu efeito completo pode ter sido encoberto pela umidade que força o decaimento da concentração de radicais.

Da mesma forma não foi possível observar o efeito dos gases. Se houve diferença entre os gases e a atmosfera (ar + umidade), ela ficou mascarada pelo efeito da umidade. O fato da curva de oxigênio só ter decaimento é facilmente explicada. Quando tomou-se a primeira medida da concentração de radicais livres, o processo de recombinação já havia se iniciado.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5.1 - Conclusões

O método de RMN foi aplicado ao estudo de prótons (de hidrogênio) no café.

O método de RPE foi utilizado na investigação dos radicais livres criados pela torração do café. A operação do aparelho restringiu-se a banda X.

Em ambos os métodos, as medidas foram tomadas à temperatura ambiente.

Pela RMN foi possível distinguir duas linhas de ressonância de prótons (de hidrogênio) com larguras de linha distintas. Elas mostraram como os prótons (de hidrogênio) estão agregados no grão de café. A linha dita "larga" é provavelmente devido, em grande parte, a holocelulose. A linha dita "fina" contém, em parte, água, voláteis e óleo. O estudo de hidratação permitiu uma melhor compreensão da velocidade de absorção de água e em quais sítios ela penetra. A maturação do grão de café mostrou ser um indicador da quantidade de água + voláteis + óleo existentes no grão.

Em RPE, os radicais livres formados no café foram identificados mostrando $g = 2,0024 \pm 0,0005$ e parecendo seguir uma cinética de 1ª. ordem com energia de ativação de $-0,14$ eV e fator de frequência de -10^{-2} s^{-1} .

A perda de massa por torração e o grau de torra

ção estão intimamente ligada a concentração de radicais.

Estudos sobre a influência de parâmetros como: atmosfera (ar + umidade), luz e gases (N_2 e O_2) sobre a concentração de radicais livres no café durante a estocagem do mesmo indicaram que:

- O maior fator de recombinação de radicais é a umidade.

- A luz promove a criação de radicais livres, mas um melhor entendimento da ação dela exige um melhor controle da umidade do café durante a preparação.

- Os gases aparentemente não demonstraram efeito algum sobre os radicais, contudo seu efeito pode ter sido mascarado pelo alto grau de umidade da amostra evidenciado pelo rápido decaimento da concentração. Outra hipótese a ser levada em consideração é que devido a superfície de contacto ser pequena, e ainda os gases estarem a pressão atmosférica, a difusão dos mesmos para dentro da amostra é reduzida.

5.2 - Perspectivas

A partir das técnicas de RMN e RPE torna-se possível uma vasta variedade de pesquisas sobre o café. Para citar alguns exemplos:

A RMN

- poderia ser utilizada para melhoria genética do café, já que um maior teor de óleo, e voláteis a ele agregados, indicam um café de melhor qualidade.

- forneceria informações no estudo da água no pro-

cesso de armazenamento.

- responderia muitas questões pertinentes aos mecanismos de degradação de qualidade com a formação de defeitos.

A RPE

- possibilitaria melhoramentos das técnicas de torção e moagem. No processamento industrial (café solúvel) as técnicas de armazenamento e embalagem poderiam ser melhoradas.

- obteria informações sobre os mecanismos relacionados com o processo de torração (formação de melanoidinas). Esbelecendo talvez, uma relação cor/sabor-aroma.

- através da detecção de Fe e Mn (no café crú) poderia fornecer medidas de processos fisiológicos da planta, já que a presença destes metais está relacionada com a diminuição de defeitos nos grãos.

Para finalizar, deve aqui ser colocado que, toda a sistemática de trabalho desenvolvida nesta tese foi aplicada a um tipo específico de café, o que abre um grande caminho para pesquisa de outros tipos e variedades de café sujeitas a outras condições de solo e clima.

REFERÊNCIAS

- 01 - William L. Rollwitz and Gilbert A. Persyn, J. Amer. Oil Chemists' Soc. 4, 59 (1971).
- 02 - Peter B. Ayscough, Electron Spin Resonance in Chemistry, Methuen (1967).
- 03 - T. H. Wilmshurst, Electron Spin Resonance Spectrometers, Plenum Press, New York (1968).
- 04 - H. M. Assenheim, Introduction to Electron Spin Resonance, Hilger & Watts LTD (1966).
- 05 - S.A. Al'tshuler and B.M. Kozyrev, Electron Paramagnetic Resonance, Academic Press (1964).
- 06 - R.T. Schumacher, Introduction to Magnetic Resonance, W.A. Benjamin, Inc. (1970).
- 07 - E.C. da Silva, Tese de Doutorado, UNICAMP (1979).
- 08 - L.C. Hernández P. et al, ASIC, 6e COLLOQUE Bogotá (1973), pag. 163.
- 09 - J. Díaz S. et al, ASIC, 6e COLLOQUE Bogotá (1973), pag. 172.
- 10 - C.A. Vinha, Tese de Mestrado, UNICAMP (1979).
- 11 - VARIAN, Conversion Instructions for E-line EPR System and Wideline, publicação nº 87-125-552.
- 12 - F. Bloch, W. Hansen, M. Packard, Phys. Rev. 69, 127 (1946).
- 13 - E.M. Purcell, H. C. Torrey, R. Pound, Phys. Rev. 69, 37 (1946).
- 14 - M. N. Clifford, Process Biochemistry, 20 (march 1975).

- 15 - J. Rodrigues et al, ASIC, 7e COLLOQUE Hambourg (1975), pag. 153.
- 16 - J. P. O'Meara, F. K. Truby and T. M. Shaw, Food Research, 22, 96 (1957).
- 17 - G. H. D. Van der Stegen, Food Chemistry 4(1), 23 (1979).
- 18 - K. A. Munday, M. L. Edwards and G.A. Kerkut, J. Sci Food Agric. 13, 455 (1962).
- 19 - T. P. Lambuza, S. R. Tannenbaum and M. Karel, Food Technology 24, 54 (1970).
- 20 - Tradução do Dr. Guilherme. Publicação interna do IBC.
- 21 - Tradução do Dr. Guilherme. Publicação interna do IBC.
- 22 - J. E. Bennett, D. J. E. Ingram and J. G. Tapley, J. Chem. Phys. 23, 215 (1955).
- 23 - R. C. Pastor et al, Phys. Rev. 102, 918.
- 24 - D. J. E. Ingram, Biological and Biochemical Applications of Electron Spin Resonance, Plenum Press (1969).
- 25 - D. J. E. Ingram et al, Nature 174, 797 (1954).
- 26 - A. Abragam, The Principles of Nuclear Magnetism, Clarendon Press (1973).
- 27 - E. R. Andrew, Nuclear Magnetic Resonance, Cambridge University Press (1969).
- 28 - CRC Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, Inc. (1981).
- 29 - VARIAN, E-line EPR system, publicação nº 87-125-012.

- 30 - Raymond S. Alger, Electron Paramagnetic Resonance Techniques and Applications, John Willey and Sons (1968).
- 31 - T. Andersen and K. Olesen, Trans. Faraday Soc. 61, 781 (1965).
- 32 - Streuli, H., Der Heutige Stand der Kaffeechemie, 6^{ème} COLLOQUE International sur la Chimie des Cafés, Bogotá, ASIC (1973), pag. 61-62.
- 33 - Tressl, R., Bildung von Aromastoffe durch Maillardréaktion 9^{ème} COLLOQUE Scientifique International sur de Café. Londres, ASIC (1980), pag. 55.
- 34 - Illy, E., Brumen, G.F., Mastropasqua, L., Study on the Characteristics and the Industrial Sorting of Defective Beans in Green Coffee Lots. Anais do Xº Congresso, Salvador.
- 35 - Radtke, R., Das Problem de CO₂ - Desorption von Röstkaffee unter dem Gesichtspunkt eineir neuen Packstoffentwicklung. 7^{ème} COLLOQUE International sur la Chimie des Cafés, Hamburg, ASIC (1976), pag. 323.
- 36 - Sivets, M., Coffee Technology, Avi Publishing Company, Inc. (1979).
- 37 - Stirling, H., Storage Research on Kenya Arabica Cofee, 9^{ème} COLLOQUE Scientifique International sur le Café, Londres, ASIC (1981).
- 38 - Jouanja, F., Transport Maritime du Café Vert et Conteneurisation, 9^{ème} COLLOQUE Scientifique International sur le Café, Londres, ASIC (1981), pag. 177.
- 39 - Baltes, W., Rösteffekte auf die Kaffeezusammensetzung, VIIIº Colóquio Científico International sobre o Café, Abdjam,

ASIC (1979), pag. 85.

- 40 - Multon, J.L., Mme. Poisson, Mme. Hahn D., Barel M., Corte dos Santos A., ASIC, 6e COLLOQUE, Bogotá, (1973) pag.268.
- 41 - Santanilla, J.D., Fritsch, G. e Müller-Warmuth, W.,
Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung,
(1981), 172 , 81-86.