

Variabilidade do Teor de Cafeína em Sementes de Café¹

P. Mazzafera*, A. Carvalho**,
L. C. Fazuoli**, H. P. Medina Filho**

ABSTRACT

Due to increasing consumption of decaffeinated coffee, the search for naturally low-caffeine *C. arabica* variants has become important, and breeding programs with this objective have been developed. The present study analyzed seed caffeine content of over 500 individuals, including advanced breeding lines, land races and, among others, accessions from India, Ethiopia, Kenya and Saudi Arabia, all in the germ plasm bank of the Genetics Department of the Instituto Agronômico de Campinas. Except for the low-caffeine var. Laurina (0.7%) of *C. arabica* and the high-caffeine *Coffea canephora* hybrids, most individuals were in the mean range of 1.0 to 1.2%. The highest value (1.7%) was observed in the seeds of an Icatu line, while the lowest (0.8%) was noted in var. Bourbon Amarelo of *C. arabica*. Considering the great number of individuals, the diversity of the *C. arabica* germ plasm analyzed and the lack of variability for low caffeine content observed in this species, it is suggested that breeding programs to achieve the less than 0.7% caffeine found in var. Laurina should be based on crosses of this variety with other *Coffea* species.

Key words: *Coffea arabica*, interespecific hybrids, caffeine.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se notado crescente preocupação com a qualidade dos produtos alimentícios consumidos. Com o avanço tecnológico e com a possibilidade de estudos mais detalhados sobre a composição de alimentos e bebidas, novas pesquisas na área de fisiologia animal vêm sendo conduzidas, a fim de se avaliar o efeito de determinadas substâncias na saúde humana.

No que diz respeito à cafeína do café, a crescente procura pelo produto descafeinado nos mercados internacionais representa para a indústria do café um novo

RESUMO

Devido à crescente demanda no consumo de café descafeinado, o estudo da variabilidade do conteúdo desse alcalóide no germoplasma de café é de grande importância. Programas de melhoramento visando cafeeiros com baixos teores de cafeína nas sementes dependem dessas informações. Neste trabalho analisou-se o teor de cafeína em sementes de mais de 500 cafeeiros da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas, a grande maioria de *Coffea arabica*, compreendendo seleções avançadas, cultivares antigos e, entre outros, introduções da Índia, Etiópia, Quênia e Arábia Saudita, pertencentes ao banco de germoplasma. Com exceção da variedade Laurina de *C. arabica*, com baixo teor (0.7%) e híbridos de *C. canephora*, com valores mais elevados, a maioria dos indivíduos apresentou teores de cafeína ao redor de 1.0% e 1.2%. Foi observado em um cafeeiro da variedade Icatu o maior teor (1.7%) e em um da variedade Bourbon Amarelo o menor (0.8%). Considerando o grande número de indivíduos, a diversidade do germoplasma de *C. arabica* analisado e a falta de variabilidade para baixo teor de cafeína encontrada nessa espécie, sugere-se que um programa de melhoramento visando teores abaixo de 0.7% encontrado no Laurina, seja baseado em cruzamentos dessa variedade com outras espécies de *Coffea*.

Palavras chave: *Coffea arabica*, híbridos interespecíficos, cafeína.

e promissor mercado. A cafeína do café é extraída industrialmente pelo emprego de solventes orgânicos, o que encarece o preço do produto. A cafeína extraída é purificada e utilizada por indústrias de refrigerantes e de fármacos. Dessa forma, para os países produtores cultivares geneticamente melhorados, com alto ou baixo teor de cafeína, seriam uma excelente alternativa, independentemente da preferência do mercado interno.

O presente trabalho apresenta os resultados de análises do teor de cafeína em mais de 500 cafeeiros, na sua maioria de *C. arabica*, pertencentes ao programa geral de melhoramento do cafeeiro da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas. Além de ter sido estudada a variabilidade de cafeína em material pertencente ao banco de germoplasma, análises também foram feitas em cafeeiros em avançado estágio de seleção para produtividade, a fim de se obterem informações sobre o conteúdo de cafeína que apresentam.

¹ Recebido para publicação em 9 de outubro de 1990.
Trabalho financiado pela FINEP.

* Depto Fisiol. Vegetal, IB, UNICAMP, CP 6109, CEP 13081, Campinas, SP, Bra.

** S. Genética, Instituto Agronômico, CP28, CEP 13100, Campinas, SP, Bra. Com bolsa do CNPq.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros foram colhidos de cafeeiros de diferentes experimentos de progênes, preferencialmente daqueles mais produtivos. A maioria dos indivíduos pertenciam a *C. arabica*, sendo que alguns eram híbridos dessa espécie com outras espécies de *Coffea*.

Após beneficiadas, as sementes foram secas em estufa a 80°C por uma semana. Depois de moídas finamente, foram extraídas com clorofórmio sob refluxo e, após diluição apropriada, determinou-se as absorvâncias em 257 nm, 277 nm e 297 nm em espectrofotômetro, conforme o método modificado de Kum-Tatt (12) para determinação de cafeína. Devido a boa repetibilidade dos resultados desse método

decidiu-se pela realização de três repetições por amostra de café, uma vez que raramente foram observadas variações acima de 5% dos valores obtidos, normalmente não ultrapassando 3%.

A fim de se conhecer a variação no teor de cafeína de um ano para outro, em algumas variedades foram realizadas análises de sementes provenientes de dois anos diferentes.

RESULTADOS

A variedade Icatu de *C. arabica*, derivada de retrocruzamentos para essa espécie de um híbrido interespecífico com *C. canephora*, representou o maior

Quadro 1. Teor de cafeína em híbridos interespecíficos e seus retrocruzamentos para *C. arabica*.

Híbrido	Retro (núm.)	Geração ¹	Plantas analisadas (núm.)	Cafeína ² (%)	Desvio padrão	Amplitude de variação (%)
<i>C. arabica</i> X <i>C. canephora</i> DP ^{3,4}						
H3849	1	2	7	1.298	0.152	1.124 - 1.553
H3849	1	3	3	1.421	0.310	1.164 - 1.766
H3851	1	2	23	1.265	0.159	0.963 - 1.524
H4782	2	2	53	1.116	0.136	0.859 - 1.507
H4782	2	3	32	1.095	0.821	0.821 - 1.686
H4782	2	4	73	1.169	0.210	0.868 - 1.742
H11742	3	2	1	1.069	—	—
<i>C. arabica</i> X <i>C. racemosa</i> DP						
C1195	1	2	2	1.037	—	0.911 - 1.162
C1195	2	3	5	1.230	0.149	0.985 - 1.389
H11536	3	2	5	1.128	0.225	0.903 - 1.377
H11877	3	1	7	1.129	0.144	0.958 - 1.304
H12037	3	3	4	1.139	0.072	1.071 - 1.240
<i>C. arabica</i> X <i>C. eugenioides</i> DP						
H13235	1	1	1	1.038	—	—
H13252	1	1	1	1.069	—	—
<i>C. arabica</i> X <i>C. canephora</i>						
	0	—	6	1.713	0.076	1.601 - 1.796

1 Após o retrocruzamento (retro).

2 Média de três repetições.

3 Linhagens da variedade Icatu de *C. arabica*.

4 DP = número duplicado de cromossomos.

número de indivíduos analisados (Quadro 1). Essa variedade mostrou grande variação não somente entre cafeeiros de uma mesma linhagem, assim como entre linhagens diferentes. A terceira geração de H3849 apresentou o cafeeiro com maior teor de cafeína. A quarta geração de H4782 foi a que apresentou a maior amplitude de variação enquanto que na sua terceira geração encontrou-se o cafeeiro com menor conteúdo do alcalóide. De modo geral, o teor médio de cafeína nas linhagens de Icatu foi de 1.2%.

Para os híbridos interespecíficos entre *C. arabica* com *C. racemosa*, o valor médio foi ao redor de 1.1% com amplitude de variação bastante semelhante entre as linhagens. Os dois híbridos de *C. arabica* com *C. eugenoides* apresentaram teor de cafeína próximo a 1%, enquanto que um híbrido triplóide apresentou teor médio de 1.713% intermediário entre *C. arabica* e *C. canephora*.

O Quadro 2 mostra a variabilidade de cafeína em introduções da Etiópia, agrupadas em função da região de origem. No total foram analisados 36 cafeeiros,

Quadro 2. Teor de cafeína em introduções de *C. arabica* de diferentes regiões da Etiópia.

Região	Plantas analisadas (núm)	Cafeína ¹ (%)	Desvio padrão	Amplitude de variação (%)
Gojjan	15	1.033	0.097	0.806 - 1.175
Geisha	2	1.043	—	1.002 - 1.083
Harar	3	1.043	0.255	0.825 - 1.324
Illubabor	2	1.209	—	1.093 - 1.324
Kaffa	13	1.217	0.203	0.898 - 1.595
Sidamo	1	0.960	—	—

1. Média de três repetições

entre os quais um da região de Gojjan apresentou o menor conteúdo do alcalóide nas sementes (0.806%) e um de Kaffa, o maior conteúdo (1.595%).

O Quadro 3 mostra os conteúdos de cafeína encontrados em sementes de outras introduções da Etiópia, da Índia, do Quênia e da Arábia Saudita. De modo geral, os valores encontrados para estas introduções situaram-se ao redor de 1%, não se des-

Quadro 3. Teores de cafeína em introduções de *C. arabica* em dois anos.

Introdução	Cafeína ¹		Introdução	Cafeína	
	1987 (%)	1989 (%)		1987 (%)	1989 (%)
Índia			Quênia		
C1103 Mysore	1.032	1.059	C1117 Sel N197	1.059	—
C1105 964.2/1	1.014	1.116	C1118 Mibirizi	1.161	—
C1106 BA14	1.056	—	C1119 Sel P313	1.156	—
C1107 BA27	1.159	1.146	C1120 Sel X321	1.084	1.162
C1108 BA27	1.100	1.235	C1121 Sel 11	1.051	—
C1109 BA8	1.068	—	C1123 KP 263	0.988	1.142
C1110 BA10	1.073	1.205	C1127 AC53	0.959	1.115
C1111 BA2	1.135	1.221	C1128 KP532	1.092	—
C1112 BA13	1.186	—	C1129 N39	0.932	0.901
C1115 BA3	1.135	—	C1130 H1	1.137	—
Etiópia			C1131 AC98	1.070	—
C1124 Jimma Tana	0.998	0.875	C1132 KP423	1.152	1.093
C1137 Geisha	1.143	1.231	C1134 N100	0.989	—
C1141 Amfillo	0.932	—	C1135 F502	1.090	1.228
C1142 Dalle	1.090	1.138	C1136 H66	0.967	1.030
C1149 Dalle/Dilla	1.127	1.132	C1138 I60	1.097	—
C1155 Erecta	1.085	—	C1147 SL10	0.927	1.040
C1156 Dilla & Alghe	1.131	1.271	C1148 SL30	1.030	—
			C1151 K7	1.188	1.206
			C1153 SL28	1.303	—

(Cont. de Quadro 3)

Introdução	Cafeína ¹		Introdução	Cafeína	
	1987 (%)	1989 (%)		1987 (%)	1989 (%)
C1161 Tafariakela	1.205	—	C1159 Kent	1.199	—
C1162 Mattu	1.164	1.171	C1166 N50	1.205	—
C1163 Eritrean Moca	1.148	—	C1169 N205	0.910	—
C1164 Agaro	1.067	—	C1170 KP228	1.050	—
C1167 Amfillo	1.110	—			
C1556 Kaffa	1.118	—	Arábia Saudita		
C2080 E177	1.262	1.237			
C2119 E293	1.086	—	C3376 Abha	0.933	1.198
C2180 E472	1.049	—	C3377 Bani Malik	0.963	1.190
C2186 E496	1.109	—			
C2189 E505	1.246	—			

1. Média de três repetições.

tacando entre eles nenhum cafeeiro com valor muito acima ou abaixo desta média, com exceção do exemplar C1124 Jimma Tana com teor pouco menor.

Quanto às variedades mais cultivadas de *C. arabica* e alguns híbridos entre variedades de mesma espécie (Quadro 4), os valores médios para cafeína também estiveram ao redor de 1%, exceção feita aos cafeeiros Laurina. O menor teor foi observado em um cafeeiro Bourbon Amarelo (0.804%) e o maior em um híbrido entre Mundo Novo e Laurina (1.455%). Grande variação foi observada entre os híbridos de Laurina, heterozigotos para o fator "lr" e morfologicamente semelhantes ao Mundo Novo. Tais cafeeiros vêm sendo utilizados em retrocruzamentos para o Mundo Novo.

A separação da variedade Catuai nas suas formas frutos amarelos e vermelhos não mostrou diferenças quanto ao teor de cafeína, sendo que Catuai Amarelo teve teor médio de 1.127%, com desvio padrão de 0.106 e Catuai Vermelho 1.142% e 0.111 respectivamente (dados não apresentados no Quadro 4).

O Quadro 5 apresenta os resultados das dosagens de cafeína em variedades de *C. arabica*. Com poucas exceções, como obviamente a var. Laurina, as demais apresentaram valores próximos a 1.1%. Em sementes de um dos anos de coleta, a variedade Nana foi a única cujo teor de cafeína excedeu sensivelmente os outros teores encontrados, atingindo 1.4%. Variegata e San Ramon apresentaram valores superiores a 1.3%.

Diversas variedades apresentadas no Quadro 5 são geneticamente conhecidas (12). Dessa forma, os fatores nana, xantocarpa, caturra, bourbon, mokka, etc.

presentes em combinações alélicas diferentes nessas variedades, como por exemplo Nana (nana), Murta (Nana) e Bourbon (NaNa), mostram que o fator 'Laurina' quando na forma homozigota recessiva parece ser o único a ter influência marcante no teor de cafeína.

Quanto ao conteúdo de cafeína em sementes de frutos colhidos em diferentes anos, não se pode notar variações pelas quais pudesse ser afirmado que houve redução o aumento significativo de um ano para outro. As maiores alterações foram observadas nas variedades Nana, Palidoviridis e Maragogipe Amarelo. As variações ambientais (1, 7), a adubação (14) e mesmo o ataque por *Hemileia vastatrix* (18) seriam alguns dos fatores que poderiam afetar, dentro de um certo limite, o conteúdo de cafeína, porém, acredita-se que isto não acarreta alterações significativas.

DISCUSSÃO

Já no início do século o teor de cafeína no café despertava o interesse de alguns pesquisadores. D'utra (10) encontrou teores de 0.94% a 1.85% em café 'Arabica', sendo os mais altos em amostras da variedade Maragogipe. Em Bourbon a média encontrada foi de 1.38%. Na década de 30, Duarte (9) e Wilbaux (20) observaram que café 'Arabica' da Ilha de São Tomé e do Congo possuíam cafeína entre 0.70% a 1.23% e 0.94% a 1.59%, respectivamente.

Tango e Teixeira (19) encontraram variações entre 1.073% a 1.296% no conteúdo de cafeína em sementes de cafeeiros de 12 progênies da variedade Mundo Novo. Castilho e Parra (5) analisando 38 introduções

Quadro 4. Teor de cafeína em variedades e híbridos de *C. arabica*.

Variedade	Geração ¹ (núm.)	Plantas Analisadas (núm.)	Cafeína ² (%)	Desvio padrão	Amplitude de variação (%)
Bourbon Amarelo	1	18	1.057	0.146	0.804 - 1.325
Mundo Novo	1	26	1.100	0.089	0.895 - 1.271
Catuai	3	6	1.160	0.073	1.024 - 1.242
Catuai	4	36	1.126	0.104	0.946 - 1.391
Catuai	5	2	1.113	—	1.007 - 1.072
Laurina	1	6	0.614	0.044	0.542 - 0.661
Catuai Vermelho x São Bernardo	0	2	1.210	—	1.136 - 1.283
Catuai Vermelho X Erecta	1	1	1.206	—	— —
Acaia X S. Bernardo	0	1	1.052	—	— —
Mundo Novo X São Bernardo	0	1	1.183	—	— —
Mundo Novo X Vila Lobos	1	1	1.010	—	— —
Mundo Novo X Pacas	1	1	0.986	—	— —
Mundo Novo X Laurina	1	49	1.025	0.127	0.825 - 1.455
Vila Sarchi X Híbrido de Timor	0	13	1.052	0.158	0.858 - 1.391
Vila Sarchi X Híbrido de Timor	2	12	1.036	0.092	0.882 - 1.148

1. Número de autofecundações

2. Média de três repetições.

de *C. arabica* da Etiópia não encontraram teores inferiores a 1% de cafeína. Por outro lado, Charrier e Berthaud (8) relataram que o conteúdo de cafeína em germoplasma de *C. arabica* da Etiópia variava de 0.8% a 1.9%.

Carvalho *et al.* (3) verificaram níveis de 0.69%, 1.07%, 1.17% e 1.24% nas variedades Laurina, Catuai Vermelho, Bourbon Vermelho e Cera, respectivamente. O teor médio encontrado para 11 cafeeiros da variedade Icatu foi de 1.2% com limites de variação de 1.1% a 1.45%. Outros sete cafeeiros da variedade Catimor tiveram média de 1.08%, com limites de variação de 0.89% a 1.34%. O Híbrido de Timor, parental de Catimor, possuía 1.34% em quanto que três híbridos de *C. arabica* e *C. racemosa* apresentaram teor médio de 1.36%.

Estudos realizados por Berthaud e Berthou (2), Carvalho *et al.* (3), Charrier (7), Charrier e Berthaud (6) e Mazzafera e Magalhães (16) relataram sobre o teor de cafeína em sementes de outras espécies de café.

Os trabalhos citados acima, juntamente com os dados aqui apresentados, vêm demonstrar a variabilidade do conteúdo de cafeína em *C. arabica*, embora nenhum valor encontrado tenha sido menor do que aquele da variedade Laurina. É provável que parte dessa variabilidade relatada em diferentes trabalhos seja devido aos diferentes métodos empregados nas determinações.

Apesar de Kazi (11) ter chamado a atenção para a interferência de dimetilxantinas (teobromina e teofilina) na determinação de cafeína por espectrofotometria, Mazzafera e Magalhães (16) observaram estreita correlação entre determinações por este método e por cromatografia líquida de alto desempenho (hplc), este último um método de alta confiabilidade. Muito provavelmente, a pouca interferência observada por Mazzafera e Magalhães (16) seria devido à pequena quantidade das dimetilxantinas no grão verde de café, quando comparadas proporcionalmente a cafeína. Tal fato pode ser constatado nos dados de Kazi (11) e

Quadro 5. Teor de cafeína em variedades de *C. arabica* em dois anos.

Variedade	Cafeína		Variedade	Cafeína	
	1987 (%)	1989 (%)		1987 (%)	1989 (%)
Amarelo de Botucatu	1.184	1.273	Macrodiscus	1.104	1.100
Angustifolia	1.160	—	Maragogipe AD	0.942	0.960
Anormalis	1.193	1.164	Maragogipe Amarelo	0.821	1.198
Abramulosa 1	1.196	1.231	Maragogipe Vermelho	0.969	1.144
Abramulosa 2	1.108	1.300	Mokka "LrLr"	1.146	1.128
Abssinica	1.131	1.230	Mucronata	1.044	0.961
Bourbon Amarelo	1.032	1.029	Mundo Novo Amarelo	1.096	—
Bourbon Vermelho	1.146	—	Mundo Novo Vermelho	1.179	1.092
Bourbon Vermelho Puro	1.036	1.112	Murta	1.192	1.131
Bullata	1.130	—	Nana	1.195	1.416
Caripe	1.065	1.176	Nacional (Arabica)	0.936	—
Catimor	1.092	—	Pacas	1.085	1.161
Catuai Amarelo	1.036	1.032	Palidoviridis	0.878	1.289
Catuai Vermelho	1.183	1.197	Pendula	1.211	1.159
Caturra Amarelo	1.116	1.064	Polyorthotropica	1.057	—
Caturra Vermelho	0.959	1.069	Polysperma	1.045	—
Cera	1.034	1.230	Purpurascens	1.099	0.993
Cioiccie	1.060	—	San Ramon	1.117	1.345
Erecta	0.846	—	São Bernardo	1.238	1.080
Enarea	0.956	—	Semierecta	1.063	1.034
Gláucia	1.139	1.189	Sumatra	1.136	1.059
Goiaba	1.124	0.957	Variação	1.099	1.038
Híbrido de Timor	1.088	1.251	Variegata	1.320	1.061
Iarana	1.027	1.287	Vila Lobos	1.136	1.145
Ibaré	1.182	—	Vila Sarchi	1.101	—
Icatu Caturra	0.896	1.089	Volitifolia	1.078	—
Laurina	0.698	0.635			

1. Média de três repetições.

Mazzafera (15), tendo o primeiro ressaltado a importância dessa interferência no café descafeinado.

Do Quadro 1 deve ser observado que mesmo nos cruzamentos entre *C. arabica* com cafeeiros de outras espécies como *C. eugenoides* e *C. racemosa*, que têm teores de cafeína inferiores a *C. arabica*, 0.4% e 0.8% respectivamente (16), o nível do alcalóide foi restabelecido para 1%. Entretanto, os cafeeiros de *C. racemosa* e *C. eugenoides* utilizados nos cruzamentos tinham seu número de cromossomos duplicado, o que poderia ter afetado o teor de cafeína.

Além de se conhecer melhor a variabilidade em *C. arabica*, um dos objetivos do presente trabalho também era investigar a possibilidade de se encontrar um cafeeiro produtivo e com sementes com baixo teor de cafeína entre aqueles já melhorados para produtividade. Os extensivos dados obtidos, em conjunto com outros dados da literatura, demonstram que a possibilidade de se encontrar um cafeeiro com tal característica em *C. arabica* parece ser remota.

Face a esses resultados e aos obtidos por Mazzafera *et al.* (17), que encontraram híbridos de *C. arabica* com *C. salvatrix* (2n=44) com cafeína ao redor de 0.5%, intensificou-se tais estudos em cafeeiros oriundos de hibridações interespecíficas.

Sob o ponto de vista do melhoramento genético, a estratégia que se apresenta como promissora para a obtenção de *C. arabica* com teores mais baixos de cafeína do que a 'Laurina', parece ser a hibridação dessa variedade com aqueles híbridos interespecíficos relatos por Mazzafera *et al.* (17), ou mesmo somente entre diversos híbridos, seguidos de autofecundação e retrocruzamentos para seleções produtivas de *C. arabica*. Considerando que o teor final de cafeína nas sementes depende de vários passos metabólicos distintos (15), a recombinação de diferentes fatores poderia resultar em plantas com teores ainda menores do que o do 'Laurina'.

O aproveitamento do fator 'Laurina' no desenvolvimento de linhagens produtivas, de porte normal e

com baixo teor de cafeína depende de análises genéticas minuciosas ainda não concluídas. As aplicações dessas análises e suas implicações no melhoramento de *C. arabica* foram discutidas por Carvalho et al. (4).

LITERATURA CITADA

1. BEAUDIN-DUFOR, D.; MULLER, L.E. 1971. Effet de la radiation solaire et de l'âge en caféine et en azote des feuilles et des fruits de trois espèces de caféiers Turrialba 21(4):387-392.
2. BERTHAUD, J.; BERTHOUD, F. 1977. Analyse de la variabilité des populations naturelles des caféiers diploides (*Coffea* spp): Observations sur le teneur en caféine et sur le polymorphisme enzymatique. In Colloquium International sur la Chimie du Café (8). p. 385-391.
3. CARVALHO, A.; SONDAHL, M.R.; SLOMAN, C. 1983. Teor de cafeína em seleções de café. In Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (10., Poços de Caldas). Resumos. p. 111-113.
4. CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C.; MAZZAFERA, P. 1988. Melhoramento do cafeeiro. 42. Produtividade de progênies derivadas de hibridação dos cultivares Laurina e Mundo Novo. Bragantia 47 (2):213-222.
5. CASTILHO, Z.J.; PARRA, H.J. 1973. Exploración en el contenido de cafeína, grasas y sólidos solubles en 113 "introducciones" de café. Cenicafé 24(1):3-22.
6. CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. 1975. Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. Café, Cacao, Thé 19(4):251-264.
7. CHARRIER, A. 1978. L'obtention et les caractéristiques des hybrides F₁ entre les Mascarocoffea et les Eucoffea. In La structure génétique des caféiers de la région Malgache (Mascarocoffea): Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (Eucoffea). Mémoires ORSTOM no. 87. p. 141-161.
8. CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. 1985. Botanical classification of coffee. In Botany, biochemistry and production of beans and beverage. Westport, Conn., AVI Publishing Comp. p. 13-41.
9. DUARTE, C. 1930. Sur les teneurs en eau et en caféine des cafés de S. Tomé et du Prince. Anais do Instituto Superior de Agronomia (Portugal) 4:1-10.
10. DUTRA, G. 1902. Composição química do café. Instituto Agronômico do Estado. São Paulo, Bra. Boletim Agricultura no. 1. p. 291-317. (Serie no. 3).
11. KAZI, T. 1985. Determination of caffeine and other purine alkaloids in coffee and tea products by high performance liquid chromatography. In Colloquium International sur la Chimie du Café (10.). p. 227-244.
12. KRUG, C.A.; CARVALHO, A. 1951. The genetics of *Coffea*. Advances in Genetics 4:127-158.
13. LOPES, M.H. 1971. Teor de cafeína em cafeeiros espontâneos de Moçambique. In Colloquium International sur la Chimie du Café (5). p. 63-69.
14. MAZZAFERA, P. 1990. Estudo sobre o papel da cafeína em plântulas de café (*Coffea arabica* L.). Revista Brasileira de Botânica (no prelo).
15. MAZZAFERA, P. 1990. Metabolismo de cafeína em espécies de *Coffea*. Tese Doutorado. Bra., Universidade Estadual de Campinas. 79 p.
16. MAZZAFERA, P.; MAGALHAES, A.C.N. 1990. Cafeína em folhas e sementes de espécies de *Coffea* e *Paracoffea*. Enviado para publicação em Revista Brasileira de Botânica.
17. MAZZAFERA, P.; CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C.; MEDINA FILHO, H.P. 1990. Caffeine content in seeds of coffee under selection at the Instituto Agrônomo de Campinas. In Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo (8., Campinas). Resumos. São Paulo, Bra. p. 128.
18. MEDEIROS, M.A.P.X.L.; GUEDES, M.E.M.; SOUSA, M.L.B. 1990. Has caffeine a role in the resistance of coffee to the orange rust? In Colloquium International sur la Chimie du Café (13.). Résumés. p. 102.
19. TANGO, J.S.; TEIXEIRA, G.C. 1961. Teor de cafeína em progênies de café. Boletim da Superintendência do Serviço do Café (Bra.) 416:6-10.
20. WILBAUX, R. 1938. Recherches sur la préparation du café par voie humide. Serv. Techn. 21:1-45. (Public INEAC).