

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**EDUARDA LOURENÇO FERREIRA**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO COMO ESTRATÉGIA  
PARA MELHORAR A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS OBTIDOS DE  
RESÍDUOS DE CASCA DE CAFÉ**

**ALFENAS/MG**

**2022**

**EDUARDA LOURENÇO FERREIRA**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO COMO ESTRATÉGIA  
PARA MELHORAR A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS OBTIDOS DE  
RESÍDUOS DE CASCA DE CAFÉ**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Reaproveitamento de resíduos.

Orientador: Prof. Dra. Joelise de Alencar Figueira Angelotti

Coorientador: Prof. Dr. Ruann Janser de Castro

**ALFENAS /MG**

**2022**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfnas  
Biblioteca Central.

Ferreira, Eduarda Lourenço .

Avaliação de diferentes métodos de extração como estratégia para melhorar a atividade antioxidante de extratos obtidos de resíduos de casca de café / Eduarda Lourenço Ferreira. - Alfnas, MG, 2022.

53 f. : il. -

Orientador(a): Joelise de Alencar Figueira Angelotti.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Alfnas, Alfnas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Café. 2. Resíduos agroindustriais. 3. Antioxidante. 4. Casca de café.  
5. Extração. I. Figueira Angelotti, Joelise de Alencar , orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com os dados fornecidos pelo autor.

**EDUARDA LOURENÇO FERREIRA**

**AValiação de diferentes abordagens de extração como estratégia para melhorar a atividade antioxidante de extratos obtidos de resíduos de casca de café**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biotecnologia.

Aprovada em: 13 de dezembro de 2022

Profa. Dra. Joelise de Alencar Figueira Angelotti  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL

Prof. Dr. Ernandes Benedito Pereira  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL

Profa. Dra. Paula de Paula Menezes Barbosa  
Instituição: Colégio Técnico de Campinas



Documento assinado eletronicamente por **Joelise de Alencar Figueira Angelotti, Professor do Magistério Superior**, em 13/12/2022, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ernandes Benedito Pereira, Professor do Magistério Superior**, em 13/12/2022, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paula de Paula Menezes Barbosa, Usuário Externo**, em 13/12/2022, às 15:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0885856** e o código CRC **A91CB7EF**.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar a Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho.

Aos meus pais, irmãos e amigos que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização desta dissertação.

A minha orientadora Dra. Joelise de Alencar Figueira Angelotti e ao meu co-orientador Ruann Janser de Castro, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Gostaria de agradecer à Fazenda Vale Verde pela doação das cascas de café.

Aos professores do PPGBIOTEC, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Financiamento 001.

## RESUMO

Devido a intensa atividade agroindustrial no Brasil, o setor foi responsável por 27% do PIB em 2020, ocorre a geração de grandes volumes de biomassa como uma das consequências diretas. Grande parte da biomassa é destinada a geração de energia através da queima em caldeiras, pode ser utilizada em usinas de biogás e compostagem para auxiliar na recuperação do solo. Porém, as cascas, as sementes, os materiais lenhosos e orgânicos possuem muitos nutrientes que podem ser extraídos para serem utilizados na indústria farmacêutica, de alimentos e cosmética. O sul de Minas é responsável por grande parte do café produzido no Brasil, e após seu processamento para obtenção dos grãos de café, as cascas são subutilizadas ou descartadas gerando impacto negativo ao meio ambiente. Muitas pesquisas apontam que as cascas de café poderiam ser utilizadas de diversas formas, como na alimentação animal, pecuária, na compostagem, em biocombustíveis entre outros. Nas cascas de café existem diversos compostos fenólicos sendo o ácido clorogênico (ACG) o mais estudado e conhecido. O método de extração selecionado é uma variável muito importante, pois influencia a obtenção desses compostos, no teor e no perfil de substâncias. O objetivo desse trabalho foi a avaliação de nove diferentes métodos de extração empregando técnicas clássicas como a extração utilizando os solventes etanol e acetona, assim como técnicas emergentes como utilização de ultrassom, autoclave e enzimas hidrolíticas e duas granulometrias diferentes (912  $\mu\text{m}$  e  $>295\mu\text{m}$  para obtenção de extratos com elevada atividade antioxidante. Após obtenção dos extratos foram realizadas as análises de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante por DPPH, FRAP e ABTS e os resultados foram avaliados utilizando a metodologia de Delineamento de Blocos Casualizados. Após análise dos resultados, o efeito da influência da granulometria foi significativo somente para a concentração de compostos fenólicos, além disso, o método de extração assistida por enzimas (Viscozyme) e utilizando tratamento térmico (autoclave – 15 min e 30 min) foram os mais eficazes para obtenção de um extrato com maior atividade antioxidante, indicando que a utilização de métodos de extração menos agressivos ao meio ambiente são eficientes e que os resíduos são fontes promissoras de compostos antioxidantes.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; resíduos agroindustriais; extração.

## ABSTRACT

Due to the intense agro-industrial activity in Brazil, the sector was responsible for 27% of PIB in 2020, and large volumes of biomass are generating large volumes of biomass as one of the direct consequences. Currently part of the biomass is intended to generate energy through burning in boilers, can be used in biogas and composting plants to assist in soil recovery. However, the shells, seeds, woody, and organic materials have many nutrients that can be extracted for use in the pharmaceutical, food and cosmetic industries. The south of Minas Gerais is responsible for a large part of the coffee produced in Brazil, and after its processing to obtain coffee beans, the shells are underused or discarded generating a negative impact on the environment. Many studies indicate that coffee hulls could be used in various ways, such as animal feed, livestock, composting, biofuels, adsorbent production, among others. In coffee hulls there are phenolic compounds such as chlorogenic acid (GCA), which is considered one of the main gifts in coffee. The selected extraction method is a very important variable because it influences the production of these compounds, the content and profile of substances. The objective of this work was the evaluation of 9 extraction approaches using classic emerging techniques such as extraction using ethanol and acetone solvents, as well as techniques such as the use of ultrasound, autoclave and hydrolytic enzymes and 2 two different particle sizes (912  $\mu\text{m}$  and  $>295 \mu\text{m}$ ) to obtain extracts with high antioxidant activity. After obtaining the extracts, analyzes of total phenolic compounds, antioxidant activity by DPPH, FRAP and ABTS were carried out and the results were evaluated using the Randomized Block Design methodology. After analyzing the results, the effect of the influence of granulometry was significant only for the concentration of phenolic compounds, in addition, the enzyme-assisted extraction method (Viscozyme) and using thermal treatment (autoclave - 15min and 30 min) were the most effective for obtaining an extract with greater antioxidant activity, indicating that the use of extraction methods that are less aggressive to the environment are efficient and that the residues are promising sources of. antioxidant compounds.

Keywords: phenolic compounds; agroindustrial residues; extraction.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b>	Espécie Coffea arábica; Fonte: Nome científico do café e suas espécies   GrãoGourmet (graogourmet.com) .....	17
<b>Figura 2-</b>	Fluxograma de execução do projeto .....	27
<b>Figura 3-</b>	(a) Regressão Linear da equação GGS e (b) Regressão linear da equação RRB da farinha de casca de café .....	36
<b>Figura 4-</b>	Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH .	41
<b>Figura 5-</b>	Determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS..	42
<b>Figura 6-</b>	Determinação da atividade antioxidante pelo método de FRAP .	43

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b>	Dados amostra de café Arábica.....	34
<b>Tabela 2-</b>	Dados análise granulométrica farinha de café .....	34
<b>Tabela 3-</b>	Estratégias de extração e identificação das amostras.....	37
<b>Tabela 4-</b>	Anova DBC Compostos Fenólicos totais .....	38
<b>Tabela 5-</b>	Anova DBC Atividade antioxidante DPPH .....	39
<b>Tabela 6-</b>	Anova DBC Atividade antioxidante ABTS .....	41
<b>Tabela 7-</b>	Anova DBC Atividade antioxidante FRAP .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABTS	Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
ACG	Ácido clorogênico
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEPEA	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DBC	Delineamento de Blocos Casualizados
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAE	Extração assistida por enzimas
EAU	Extração assistida por ultrassom
ECS	Extração clássica com solventes
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FRAP	Poder antioxidante redutor férrico
HPH	Homogeneização a Alta Pressão
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Ph	Potencial Hidrogeniônico
TTAC	Tratamento térmico em autoclave
TROLOX	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico 97%
UNIFAL	Universidade Federal de Alfenas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.1.1	Objetivos específicos.....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
3.1	CAFÉ.....	16
3.2	HISTÓRICO-CULTURAL DA PRODUÇÃO DO CAFÉ .....	17
3.3	BENEFICIAMENTO E PROCESSAMENTO DO CAFÉ.....	18
3.4	COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NO CAFÉ .....	19
3.5	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	21
3.5.1	Extração assistida por enzimas (EAE).....	22
3.5.2	Extração assistida por ultrassom (EAU) .....	23
3.5.3	Extração utilizando tratamento térmico (ETT).....	24
3.6	DETERMINAÇÃO ANTIOXIDANTE .....	25
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
4.1	MATERIAL .....	27
4.2	MÉTODOS .....	27
4.3	PRODUÇÃO DA FARINHA .....	28
4.4	ANÁLISE GRANULOMÉTRICA.....	28
4.5	DIFERENTES MÉTODOS PARA OBTENÇÃO DO EXTRATO .....	29
4.5.1	Extração clássica com solventes (ECS).....	30
4.5.2	Tratamento térmico em autoclave (TTAC).....	30
4.5.3	Extração assistida por enzimas (EAE).....	30
4.5.4	Extração assistida por ultrassom (EAU) .....	30
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	31

<b>4.6.1</b>	<b>Capacidade sequestradora do radical DPPH.....</b>	<b>31</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Capacidade sequestradora do radical catiônico ABTS+ .....</b>	<b>31</b>
<b>4.6.3</b>	<b>Potencial antioxidante redutor de ferro (FRAP) .....</b>	<b>32</b>
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	33
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>34</b>
5.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	36
5.3	DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS .....	37
5.4	DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPACIDADE SEQUESTRADORA DO RADICAL DPPH .....	40
5.5	DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPACIDADE SEQUESTRADORA DO RADICAL CATIÔNICO ABTS+.....	41
5.6	DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE POTENCIAL ANTIOXIDANTE REDUTOR DE FERRO (FRAP).....	43
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os resíduos agroindustriais são uma das maiores fontes de biomassa do mundo. Segundo Barreto, Zancan e Menezes (2015) representam anualmente 40 milhões de toneladas de resíduo lignocelulósico, gerando considerável prejuízo ao meio ambiente e econômico tendo em vista que poderiam ser aproveitados em atividades mais nobres.

Segundo Venturim (2002), nas lavouras cafeeiras, são geradas quantidades de resíduos significativas, cerca de 45% do total do café colhido. O Brasil é um dos maiores produtores de café no mundo, com uma produção anual de aproximadamente 50 milhões de sacas (Embrapa, 2019). O processamento do café gera enormes quantidades de resíduos sólidos (casca, polpa, mucilagem, dentre outros) e não há nenhuma aplicação viável economicamente para as cascas de café estudada até o momento.

A casca de café é constituída quimicamente por celulose (43 %), hemicelulose (7 %), taninos (5 %), ácidos clorogênicos (2,5 %), cafeína (1 %), proteína (7- 9,2 %) e minerais (5,4 %), entre outros (Murthy *et al.*, 2010). Na literatura é possível encontrar estudos em que autores avaliaram o uso das cascas de café em diversos na alimentação animal, na pecuária, na compostagem, biocombustíveis, produção de adsorventes entre outros.

Segundo Júnior (2020) atualmente a agricultura está sob crescente pressão de produtividade e sustentabilidade, reduzindo seu impacto negativo no meio ambiente a fim de aumentar o seu impacto positivo na sociedade e na economia. Estes são desafios, mas também oportunidades para novos sistemas produção e processamento.

Os resíduos agroindustriais constituem uma fonte com um enorme potencial e através da biorefinaria podem ser produzidos compostos com alto valor agregado e bioatividade (Makris; Boskou, 2014). Essa bioatividade é geralmente atribuída aos compostos da família dos polifenóis e suas subclasses, vários trabalhos publicados na literatura relatam atividade anti-inflamatória, anticâncer, desordens cardiovasculares, dentre outras (Babbar, Oberoi e Sandhu, 2015). A casca de diversas frutas e vegetais são fontes riquíssimas de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante que podem ser utilizados como aditivos naturais em alimentos, na indústria de cosméticos e farmacêutica (Peralbo-molina; Castro, 2013; SADH *et al.*, 2018).

A atividade antimicrobiana de compostos fenólicos é estudada em muitas plantas medicinais, onde relatam o impacto de polifenóis derivados de plantas contra agentes patogênicos microrganismos (Ghimire *et al.*, 2017).

Segundo Mendes *et al.*, (2011), o aparecimento de microrganismos resistentes a agentes antimicrobianos comerciais tem incentivado pesquisas para encontrar novas fontes de antimicrobianos potentes e naturais, e uma das possíveis fontes desses compostos são as plantas com um grande biodisponibilidade na natureza.

Os métodos extrativos influenciam as taxas de obtenção dos compostos bioativos presentes nas matrizes vegetais. Ao longo da última década, uma série de novas técnicas de extração foram introduzidas e investigadas, e a escolha deve ser baseada na viabilidade econômica e adequação para cada situação partícula (Boeira *et al.*, 2018).

Segundo Wolff; Silveira; Lazzarotto (2018), as variáveis do método de extração (tempo, temperatura, intensidade de agitação, tamanho de partícula e relação soluto- solvente) afetam a qualidade do extrato obtido. Além disso, a complexidade do substrato vegetal pode afetar a eficiência da extração.

A extração sólido-líquido é a operação unitária que geralmente é adotada para extração de compostos fenólicos presentes nessas amostras de materiais, porém vários fatores devem ser avaliados com o intuito de aplicação desse processo em larga-escala assim como, tipo de solvente, toxicidade, recuperação do solvente dentre outras (Manousaki *et al.*, 2016).

Diante do exposto esse trabalho avaliou diferentes estratégias de extração para obtenção de extratos oriundos de casca de café com aumento da atividade antioxidante.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi o estudo de diferentes métodos de extração na melhoria da atividade antioxidante de extratos obtidos a partir da farinha da casca de café.

#### 2.1.1 Objetivos específicos

- a) Obter farinhas da casca de café e realizar a classificação granulométrica;
- b) Aplicar quatro métodos de extração diferentes para obtenção dos extratos;
- c) Avaliar a influência do método de extração na atividade antioxidante;
- d) Determinar a atividade antioxidante pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS dos extratos produzidos;
- e) Caracterizar os extratos produzidos quanto ao teor de compostos fenólicos totais.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CAFÉ

A agroindústria é o ambiente físico equipado e preparado onde um conjunto de atividades relacionadas à transformação de matérias-primas agropecuárias provenientes da agricultura, pecuária, aquicultura ou silvicultura são realizadas de forma sistemática (Ministério da Agricultura, 2021). O grau dessas transformações muda e se adapta de acordo com os objetivos do agronegócio. Contudo é possível apontar que ele é um elo da cadeia de fornecimento de insumos agrícolas e produto aos consumidores. O nome café é originário da palavra árabe Gahwa, cujo significado é vinho. Por esse motivo, era conhecido como o "vinhoda Arábia", quando surgiu na Europa. Como descrito por, Semedo *et al.*, (2018) o café é um dos mais importantes produtos agrícolas, chegando a ser cultivado em mais de 80 países do mundo.

Ele representa uma fonte de estudo em diversas áreas de pesquisa, por apresentar relação com alegações de efeitos benéficos a saúde. O grão de café possui de 1% a 2,5% de cafeína; é rico em antioxidantes e outras substâncias biologicamente ativas. É uma planta com minerais, açúcares, gorduras, aminoácidos e uma vitamina do complexo B. (Cesar *et al.*, 2013).

Segundo Embrapa (2021), a genômica do café brasileiro permitiu ainda desenvolver programas de melhoramento genético com uso de genotipagem em escala genômica, com o objetivo de prever o potencial da planta no campo no início de seu desenvolvimento, com as seguintes vantagens: redução de custo; redução de tempo para se gerar novas cultivares/variedades; maior eficiência no desenvolvimento da cafeicultura brasileira, sem necessidade de incorporação de novas áreas para manutenção da produção nacional de café.

O café é considerado uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, considera-se que a espécie *Coffea arábica* (Figura 1) seja a mais conhecida.

**Figura 1- Espécie Coffea arábica**



*Fonte: Nome científico do café e suas espécies / GrãoGourmet (graogourmet.com) – 2011.*

### 3.2 HISTÓRICO-CULTURAL DA PRODUÇÃO DO CAFÉ

Diversos estudos apontam que o café é originário da Etiópia, de onde foi para a Arábia, e logo propagou-se para outras regiões. Martins (2017) relata em seu estudo que a África foi o território de origem, mas coube aos árabes o domínio inicial da técnica de plantio e preparação do produto. Na sociedade atual, percebe-se que com o passar do tempo cresce o hábito de tomar café como bebida agradável para o consumo em casa ou em grupo. Tal prática confirma que a importância desse produto é cada vez maior, não só como curiosidade botânica, mas principalmente como sementes de alto valor comercial e nutricional.

De acordo com Rufino (2006), o café é originalmente uma bebida da elite europeia, mais tarde teve seu consumo difundido entre as outras porções da população, e depois teve seu desempenho medicinal reconhecido por estudos na área da saúde e era indicado como um tônico para aumentar a inteligência. É importante salientar também que o café apresenta papel fundamental na evolução histórica, estando presente em diversos momentos marcantes para a história da civilização. Refletindo assim em trabalhos elaborados em diferentes setores do saber como cultural, administrativo/comércio, científicos/acadêmico, histórico. A cultura do café, ao longo dos anos, tem evoluído em ciclos compostos por fases de expansão e retração (Nogueira, 1998).

Em meados do século XIV, a bebida tomou a forma que conhecemos hoje e começou a produção em massa para o comércio. Desde que surgiu no Brasil, no século XVIII, o café já se

expandiu do Sudeste para todas as outras regiões, por esse motivo, a diversidade é uma das características da cafeicultura brasileira, do Sul à Amazônia, o café está presente em planaltos e regiões montanhosas, em cultivos adensados ou convencionais (Santos, 2004).

Segundo a Embrapa (2020) levando em consideração as variedades de café Arábica e Conilon, estima-se que a produção mundial de café em 2020 foi de 169,3 milhões de sacas, o que representa uma redução de 3% em relação à safra anterior. Nesse contexto, a produção global de café arábica alcançará 95,8 milhões de sacas, representando 56,6%, enquanto o Conilon é estimado em 73,5 milhões de sacas, representando 43,4%.

De acordo com os bancos de dados de pesquisa o Brasil atualmente é considerado um dos maiores produtores mundiais de café. Segundo Cepea (2020) no ano de 2019 o café, foi um dos responsáveis por 21,4% do PIB e 43% das exportações, um terço dos empregos e tem contribuído todo ano para a redução da taxa média de inflação.

As regiões que mais produzem café no Brasil estão localizadas na região Sudeste, sendo Minas Gerais o maior estado produtor de café, responde por cerca de 50% da produção nacional e é uma das principais fontes de cafés especiais do país. Praticamente 100% das plantações são de café Arábica, cultivado em quatro regiões produtoras: Sul de Minas, Cerrado de Minas, Chapada de Minas e Matas de Minas, que exportam seus cafés pelos portos de Santos, Rio de Janeiro e Vitória (Conab, 2021).

Conforme relata Duran (2017), o Brasil passou a ser muito importante na criação de conhecimento científico relacionados ao café, com uma produção científica ativa através de variadas universidades, instituições e centros de pesquisa de ensino. Nos últimos tempos observa-se um expressivo aumento no número de publicações científicas sobre pesquisas em café.

### 3.3 BENEFICIAMENTO E PROCESSAMENTO DO CAFÉ

O beneficiamento de grãos é um processo que busca remover e selecionar impurezas e partes residuais do café de um determinado lote, melhorando assim suas características a nível comercial. Isso é essencial para garantir uma boa propaganda do produto. A colheita e a pós-colheita são processos que estão interligados, portanto, o correto dimensionamento da quantidade de grãos de café a ser colhida em relação à estrutura de pós-colheita, que será

utilizada no processamento dos frutos é muito importante. (Senar, 2017).

As etapas do beneficiamento de grãos são: recepção, amostragem, pré-limpeza, limpeza, secagem, classificação e armazenamento (Rohrig, 2022).

No processamento de café, geralmente somente as sementes das cerejas do café são utilizadas para produção da bebida. A casca de café é utilizada, por alguns produtores, como adubação orgânica em lavouras de café e, em muitos casos, este resíduo é simplesmente descartado na natureza (Silva *et al.*, 2020).

A estrutura dos grãos de café é especialmente formada pelas seguintes frações com base na matéria seca: 29% de epicarpo (casca), 5% de mesocarpo (polpa ou mucilagem), 12% de endocarpo (pergaminho) e 54% de semente. Assim, a casca representa 46% da matéria seca do grão (Fernandes, 2007).

A casca de café é originada a partir da limpeza do café integral (em coco), composta de casca, polpa e pergaminho. A composição da casca de café é 24,5% de celulose, 29,7% de hemicelulose, 23,7% de lignina e 6,2% de cinzas, além de possuir compostos como cafeína e polifenóis (Bekalo; Reinhardt, 2010).

Segundo Manrich (2017), esses resíduos na prática agrícola tornam-se muito importantes, pois além de fornecerem uma matéria-prima rica e diversificada, são de baixo custo e disponíveis em grandes quantidades.

### 3.4 COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NO CAFÉ

Os compostos bioativos são compostos essenciais e não essenciais encontrados na natureza que fazem parte da nossa cadeia alimentar e podem ter impacto na saúde humana. Cada vez mais existem dados sobre sua caracterização devido ao grande número de estudos nessa área. Os mecanismos de ação de compostos bioativos em alimentos são complexos e pouco conhecidos e pode ser influenciado por uma variedade de fatores. Sabe-se agora que as respostas aos nutrientes são influenciadas por fatores como a genética e o microbiota intestinal (Lajolo *et al.*, 2019).

Em grãos de café são encontrados diferentes tipos de substâncias, a quantidade de cada uma dessas substâncias varia de espécie para espécie de café, muitos desses compostos estão

presentes na casca do café que é considerado um resíduo agroindustrial. Alguns estudos sobre esse resíduo têm ressaltado sua capacidade de atuar contra a redução de algumas das características bioquímicas da obesidade, como a inflamação. Toschi *et al.*, (2014) relata que, o isolamento e a recuperação de compostos biologicamente ativos na casca pode ser uma possibilidade de redução do desperdício. As cascas contêm quantidades apreciáveis de compostos bioativos, principalmente o ácido clorogênico, que já tem reconhecida atividade antioxidante descrita e representam cerca de 6-12% em massa do grão (Naidu;Murthy,2010; Andrade, 2011).

Os compostos fenólicos podem proteger o corpo humano de radicais livres, sua ocorrência acontece devido ao metabolismo celular aeróbio e o desequilíbrio entre os oxidantes e antioxidantes, configurado como estresse oxidativo (Rimbach *et al.*, 2005). A atividade antirradical livre de flavonoides e dos fenóis são baseadas principalmente na relação estrutural entre as diferentes partes de sua estrutura química.

Freedman *et al.*, (2012) em pesquisa observou uma redução de cerca de 10% na mortalidade por todas as causas e entre 12% e 20% de redução da mortalidade por doenças cardiovasculares entre consumidores moderados de café (consumo de até 500 mg de cafeína por dia, o que representa cerca de 500 mL de café – 1mg/mL), outros efeitos relatados benéficos citados na pesquisa são na atenuação do diabetes e de vários marcadores inflamatórios.

De acordo com estudos de Esquivel *et al.*, (2020) foram desenvolvidas análises a partir da polpa e cascas de variedades de café Arábica, com diferentes cores externas da fruta permitiu a identificação de 16 compostos fenólicos utilizando cromatografia líquida de alto rendimento com detecção de matriz de díodos e espectrometria de massa de ionização em várias fases. Ácido 5-O-Cafeoilquinico juntamente com hexósidos de catequina foram os fenólicos predominantes detectados nas variedades de café analisado neste trabalho. Ambos, clorofila a e b, eram detectadas nas cascas de todas as variedades, enquanto apenas a clorofila b foi observada na polpa. Assim, a cor de variedades de casca amarela foi devido aos carotenoides, enquanto o das variedades de casca laranja e de casca vermelha foram devidos a quantidade de carotenoides, como níveis baixos e altos de antocianinas, respectivamente. Os resultados atuais apontam para a utilização potencial de subprodutos de determinadas variedades de café com diferenças na fruta externa cor como fonte de compostos bioativos distintos, incluindo antocianinas e carotenoides, com benefícios para a saúde.

### 3.5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

O método de extração deve ser de modo geral rápido, simples, barato e com boa repetibilidade. A extração é uma operação físico-química de transferência de massa, onde os sólidos solúveis e voláteis podem ser extraídos por manter-se contato entre o solvente e os sólidos (Clarke, 1985).

Estas técnicas de preparação de amostras têm sido automatizadas para uso em análises de rotina, pois eliminam erros humanos de manipulação, diminuem o tempo de assistência do analista durante a análise, evitam o risco de contato com substâncias prejudiciais à saúde e aumentam, significativamente, o número de análises de amostras por tempo (Queiroz *et al.*, 2001).

Muitos métodos clássicos também denominados de convencionais podem ser aplicados para extração de compostos bioativos, porém, estes métodos de extração apresentam desvantagens, como por exemplo, o alto consumo de energia, baixa eficiência de extração e longo tempo de processamento (Naffati *et al.*, 2017).

Para a viabilização de utilização desse método é necessário observar fatores de análises importantes, como relação massa de alimentação/volume de solvente, temperatura do processo, tipo de solvente, aplicação e tipo de ácido usado para manter o pH baixo durante a extração, tempo de secagem e de extração, tamanho das partículas e metodologia aplicada (Constant, 2003; Escriche, *et al.*, 2018).

Segundo Barbi (2016), para a extração dos compostos antioxidantes de plantas e vegetais existem diversos métodos, dentre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, cetona, éter e metanol). De forma geral, os métodos convencionais de extração de compostos fenólicos se baseiam na difusão dos compostos de uma matriz sólida utilizando uma matriz líquida (solvente) (Oliveira, 2014).

Souza *et al.*, (2021) estudaram o aproveitamento da casca da melancia triturada afim de adquirir extratos com atividade antioxidante por meio do emprego de técnicas de diversas extrações, dentre os métodos utilizados avaliaram o de sistema Soxhlet, maceração e extração assistida por ultrassom. Os autores observaram que a taxa de extração de Soxhlet foi a mais alta, pois a extração é realizada sob aquecimento e, além disso, o solvente é continuamente circulado sob o sistema. Os extratos foram avaliados pelo rendimento do processo de extração,

onde em todas as análises o solvente de melhor desempenho foi o etanol.

Em pesquisas Araujo *et al.*, (2021) em estudos definiram um perfil com melhor perfil de solvente extrator dos compostos bioativos em polpa de jambo, armazenada pelos métodos de congelamento e liofilização. Verificou-se aumento significativo nos teores de proteínas, lipídeos, cinzas, açúcares redutores, sólidos solúveis, ácido ascórbico e carotenoides totais da polpa liofilizada quando comparada à congelada. Os teores de flavonoides amarelos, antocianinas monoméricas totais e de compostos fenólicos totais variaram conforme o tipo de solvente utilizado e a proporção de suas misturas. O metanol-HCl 1,5 M foi o solvente mais eficaz na extração de compostos fenólicos totais e de antocianinas, enquanto a água pura destacou-se na extração de flavonoides amarelos.

Souza *et al.*, (2021) em pesquisa, utiliza cascas de abacaxi do Vale do São Francisco- Minas Gerais, por meio da utilização de solventes orgânicos de diferentes polaridades, por meio de técnicas de extração a baixa pressão como sistema Soxhlet, imersão acompanhada por extração assistida por ultrassom, para obtenção de óleo ou extratos com capacidade antioxidante. Os autores verificaram o rendimento do extrato obtido e a extração com etanol apresentou a melhor condição.

### **3.5.1 Extração assistida por enzimas (EAE)**

As enzimas, são catalisadores altamente específicos podem ser usados para extração, modificação ou síntese de compostos biologicamente ativos de fontes naturais. Segundo Puri (2012), essas enzimas hidrolisam os componentes da parede celular vegetal e, portanto, ocorre a liberação de compostos biologicamente ativos, o que promove um aumento na taxa de recuperação desses compostos da matriz vegetal. O processo de EAE consiste em um método inovador para o uso de enzimas. Primeiramente, essa técnica foi utilizada para facilitar a extração de lipídios e proteínas a partir de sementes oleaginosas (Liu *et al.*, 2016). Possui como principal base a capacidade das enzimas de catalisarem reações específicas e regioselectivas em condições de processamento suaves e meios aquosos.

Heemann *et al.*, (2019), avaliaram a extração de polifenóis auxiliada por enzimas para determinar as melhores condições para o uso, empregando metodologia de superfície de resposta. As variáveis independentes foram: temperatura, concentração enzimática, tempo de

reação e pH. O uso de carboidrases aumentou a extração de polifenóis de 38,67% para 52,08%. Após a análise dos resultados, os autores verificaram que os termos lineares de todas as variáveis independentes foram significativos. As interações de temperatura e pH, tempo de reação e concentração da enzima e pH e concentração da enzima foram significativas. Considerando-se os resultados deste estudo e a viabilidade industrial, as melhores condições para a obtenção de polifenóis de erva-mate foram temperatura de 50,0°C, concentração de enzima 168 U/g de folhas secas, 120 minutos de tempo de reação e pH 4,5.

Em pesquisas realizadas por Atencio *et al.*, (2022) estudaram o impacto do processamento de tratamentos na extração aquosa de carotenoides de abóboras, com o objetivo de aumentar a transferência de carotenoides para a fracção de sumo, se tornando uma alternativa natural atrativa para os corantes alimentícios artificiais. O pré-tratamento enzimático do purê de abóbora transferiu 72-90% de carotenoides do purê para o sumo. O tratamento de campo eléctrico pulsado do purê de abóbora a 1 kV/cm não melhorou a transferência de carotenoides para o sumo. As condições a seguir foram testadas com o intuito de aumentar a concentração dos carotenoides: homogeneização a alta pressão (HPH) para perturbação celular mecânica, tratamento enzimático para degradação de polissacarídeos de parede celular ou por tratamento de campo eléctrico pulsado (PEF) para eletroporação de membrana celular. Os purês processados foram separados em sumo e bagaço, e os carotenoides foram quantificados por HPLC-DAD. Enquanto apenas 54-60% dos carotenoides em purê não processado foram transferidos para o sumo, o processamento de HPH e enzimas dos purês aumentou significativamente a produção de sumos e sólidos solúveis totais, e consequentemente, as concentrações de carotenoides nestes sumos até 90-98% e 72-90%, respectivamente. Não foi observada qualquer melhoria significativa para as amostras tratadas com PEF. Os resultados obtidos podem ser industrialmente úteis na produção de concentrados de plantas corantes naturais como ingredientes de marca limpa.

### **3.5.2 Extração assistida por ultrassom (EAU)**

A extração assistida por ultrassom (EAU) inclui a aplicação de ondas mecânicas para frequência acima do limite da audição humana. Essas ondas são produzidas através do transdutor, a energia eléctrica é convertida em energia mecânica. Dentre as vantagens apresentadas por este método frente aos métodos convencionais estão o menor tempo de processo, o consumo baixo de

solvente e a alta reprodutibilidade dos ensaios (Chemat *et al.*, 2011). Segundo Bortoluzzi(2010), a utilização da extração assistida por ultrassom é uma alternativa para o preparo de amostras, sendo um procedimento simples, rápido e que, geralmente, não requer a utilização de reagentes com grau de periculosidade menor. Contudo esse tipo de extração tem sido usado para extrair metais de amostras biológicas e ambientais para posterior determinação por várias técnicas analíticas encontradas na literatura.

Em um estudo Zhang *et al.*, (2021) comparou o uso esperado de três subprodutos na produção de extratos de água ricos em polifenóis por meio de extração assistida por ultrassom. O ultrassom do tipo sonda é usado para terapia de ultrassom. O teor de fenol total do extrato foi avaliado por medição de Folin-Ciocalteu, e o teor de fenol do extrato foi caracterizado por espectrometria de massa. A microestrutura da amostra extraída foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. O tratamento ultrassônico aumentou a taxa de extração e recuperou um valor significativo de ácido gálico em 30 minutos, porém observou-se que o mesmo causou danos significativos aos tecidos. Em comparação com a extração sólido-líquido convencional, a taxa de recuperação ficou entre 84,5% e 97,6%. A taxa de extração está diretamente relacionada ao tamanho de partícula da matéria-prima, e a maior taxa de extração nesse experimento foi encontrada em amostras com tamanho de partícula de 100-250  $\mu\text{m}$ .

Balaraman *et al.*, (2022) realizou uma pesquisa, sobre o uso de cascas de papaia para isolamento de cisteína protease por microextração disruptiva em fase líquida assistida por ultrassons com solventes eutéticos. A microextração em fase líquida assistida por ultrassom foi realizada produzindo 33,2 mg/g de protease de papaia.

### **3.5.3 Extração utilizando tratamento térmico (ETT)**

Uma outra abordagem de extração é a utilização de tratamento térmico, que pode ser realizado em autoclaves, com o intuito de aumentar a atividade antioxidante em extratos. Alguns estudos sugerem que um dos fatores que contribui para o incremento da atividade antioxidante são os compostos formados pela reação de Maillard e caramelização durante o aquecimento (Manzocco *et al.*, 2001).

Nithiyanthama, Siddhurajua, Francis (2013) estudaram a influência

de tratamento térmico em autoclave para aumentar a atividade antioxidante em extratos de *Jatrofa* que é uma planta conhecida por seus atributos medicinais. Os autores avaliaram o teor antioxidante dos extratos obtidos da planta *in natura* extraído com acetona e após tratamento com calor seco e autoclave. Após as análises foi verificado um aumento significativo na atividade antioxidante determinado pelos métodos DPPH, FRAP e no teor de compostos fenólicos totais das amostras tratadas termicamente. Somente a capacidade de quelar metais da amostra *in natura* foi superior quando comparadas as amostras tratadas termicamente.

Budaraju (2018), realizou uma pesquisa, onde radículas de malte de cevada (BMR) foram submetidas a cinco diferentes pré-tratamentos (vaporização (220 °C), torrefação (60 °C), autoclavagem (121 °C), micro-ondas (160-800 W, 30-120 s) e tratamento enzimático). O conteúdo fenólico total (CFT ou TPC) e a atividade antioxidante dos extratos de BMR foram avaliados para fenólicos livres e ligados. O teor de fenólicos livres para o extrato não tratado foi de 1,8 mg/g de peso seco de BMR com 17,5% de atividade antioxidante. Entre os pré-tratamentos, a autoclavagem apresentou os maiores valores de fenólicos livres de 3,8 mg/g de peso seco de BMR e 71,6% de atividade antioxidante. Os pré-tratamentos não mostraram nenhum efeito no conteúdo fenólico ligado, mas aumentaram a atividade antioxidante. A maior atividade de %DPPH para fenólicos ligados foi observada para o tratamento por micro-ondas (160 W, 120 s) com 49,9%. Geral, os pré-tratamentos aumentaram significativamente o conteúdo fenólico livre dos extratos fenólicos da BMR. Pesquisas adicionais são necessárias para entender o perfil fenólico e as interações térmicas dos extratos fenólicos ligados.

### 3.6 DETERMINAÇÃO ANTIOXIDANTE

Diversas técnicas vêm sendo utilizadas na determinação das atividades antioxidantes de variados produtos e subprodutos, tudo isso correlacionado a seleção de métodos ágeis e que gerem maior afinidade, conforme a substância procurada de cada tipo de produto ou subproduto. Em alguns casos, os resultados obtidos não podem ser comparados apenas por alguns fatores, como por exemplo, a estrutura física do sistema e a natureza do substrato oxidado. Segundo Borges *et al.*, (2011), as atividades antioxidantes de derivados vegetais vêm sendo avaliadas, sendo classificadas principalmente

por métodos colorimétricos, biológicos e eletroquímicos, entre outros métodos instrumentais. Entre os métodos colorimétricos destacam-se aqueles que relacionados à habilidade dos antioxidantes em neutralizar radicais como DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) ou ABTS [sal de amônio do ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzenotiazolina6-sulfônico)]. A maioria das metodologias antioxidantes emprega basicamente o mesmo princípio, onde um radical sintético é gerado e a capacidade de uma amostra para eliminar ou neutralizar o radical é monitorada através de um espectrofotômetro UV/visível (Arnao, 2000). Em diversas fontes da literatura é possível notar que as determinações de antioxidantes se tornam complementar pois são capazes de fornecer diferentes interpretações dos compostos bioativos, como por exemplo.

Em estudos de Almeida *et al.*, (2020) caracterizaram a influência da pasteurização lenta da polpa de juá sobre seus compostos fenólicos totais e sua atividade antioxidante. A polpa foi obtida por homogeneização dos frutos, sem as sementes, e em seguida foi colocada em um recipiente de vidro, onde foi pasteurizada. Os polifenóis extraíveis totais foram quantificados e a atividade antioxidante foi determinada por três métodos diferentes - poder antioxidante redutor férrico (FRAP), atividade de eliminação de radicais livres ABTS  $^{•+}$  ( $\mu\text{M}$  Trolox/g) e capacidade de eliminação de radicais DHHP (g/g DPPH). A atividade antioxidante pelo método DPPH aumentaram sem diferença estatística ( $p \geq 0,05$ ), enquanto se utilizou o método ABTS e o FRAP, observou-se redução, com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas para FRAP. A pasteurização lenta não causou redução significativa nem nos compostos fenólicos nem na atividade antioxidante da polpa de juá, indicando que é um processo eficiente em termos de manutenção de seus compostos funcionais.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

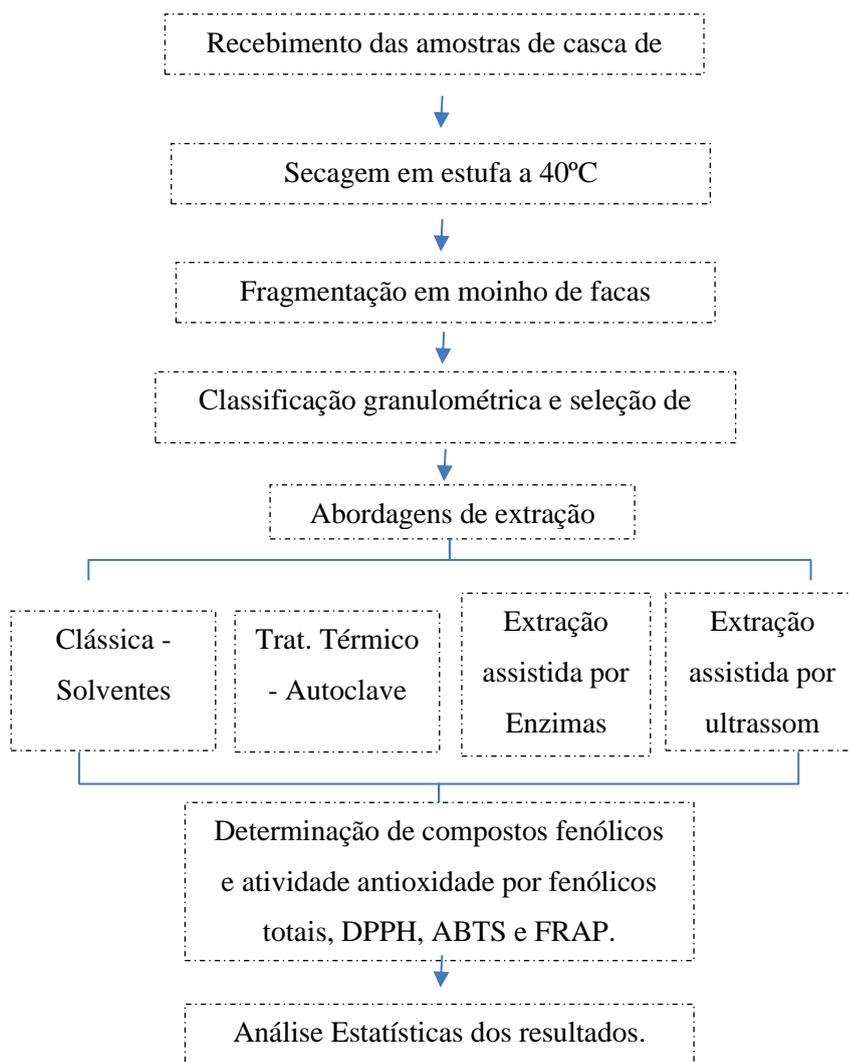
### 4.1 MATERIAL

Os materiais utilizados neste trabalho foram: a casca de café (fornecida pela Fazenda Vale Verde), solventes e reagentes com grau analítico. Quanto as enzimas hidrolíticas Viscozyme L (endoglucanase, xilanase, celulase e hemicelulose) e Celluclast 1,5 (celulase) foram gentilmente doadas pela empresa Novozymes.

### 4.2 MÉTODOS

Na **Figura 2** é esquematizado um fluxograma geral das etapas que foram realizadas nesta pesquisa.

**Figura 2-** Fluxograma de execução do estudo



**Fonte:** O Autor, 2022.

### 4.3 PRODUÇÃO DA FARINHA

As cascas de café foram fornecidas pela Fazenda Vale Verde localizada na região de Alfenas (Sul de Minas) logo após seu beneficiamento, as cascas selecionadas estavam em ponto cereja. Em seguida as cascas foram secas a temperatura constante de 40°C para preservação dos constituintes. As cascas secas foram moídas até obtenção de um pó de 0,833 mm (mesh 20) e armazenadas em freezer.

### 4.4 ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

A análise granulométrica foi realizada em um sistema de peneiras da série Tyler na faixa de 16 a 48 mesh. Esses dados foram aplicados modelos matemáticos ajustados aos dados experimentais foram o de Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS) (equação 1) e o de Modelo de Rosin- Rammler-Bennet (RRB) (equação 3) para avaliar a distribuição do conjunto de partículas da farinha de casca de café obtida após o processo de moagem. Para obtenção dos parâmetros dos modelos de distribuição granulométrica foi necessário realizar a linearização dos dois modelos, fazendo o uso das equações 2 e 4.

Modelo matemático de Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS):

$$X_f = \left( \frac{a_n}{K_{GGS}} \right) I_{GGS}$$

(Equação 1)

Onde:

$X_f$  é a fração mássica do material mais fino do que a abertura da peneira ( kg/kg total);

$a_n$  é a abertura da peneira da ordem n (m);

$K_{GGS}$  é o parâmetro que representa o tamanho médio das partículas ( $\mu\text{m}$ );

$I_{GGS}$  é o parâmetro que representa a dispersão (adimensional), também conhecido como derivada de Schumamm.

A linearização do modelo matemático de Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS) é representada na equação 2:

$$\ln X_f = I_{GGS} \ln\left(\frac{a_n}{K_{GGS}}\right) = I_{GGS} \ln a_n - I_{GGS} \ln K_{GGS}$$

(Equação 2)

O modelo matemático de Rosin- Rammler-Bennet (RRB) é mostrado na equação 3:

$$X_f = 1 - \exp\left[-\left(a_n / K_{RRB}\right)^{I_{RRB}}\right]$$

(Equação 3)

Onde:

$K_{RRB}$  é o parâmetro que representa o tamanho médio das partículas ( $\mu\text{m}$ );

$I_{RRB}$  é o parâmetro que representa a dispersão (adimensional).

Linearização do modelo matemático de Rosin- Rammler-Bennet (RRB):

$$\begin{aligned} f &= 1 - \exp\left[-\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right)^{I_{RRB}}\right] \\ 1 - X_f &= \exp\left[-\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right)^{I_{RRB}}\right] \\ \ln(1 - X_f) &= -\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right)^{I_{RRB}} \\ \ln(-\ln(1 - X_f)) &= I_{RRB} \ln\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right) = I_{RRB} \ln a_n - I_{RRB} \ln K_{RRB} \end{aligned}$$

(Equação 4)

#### 4.5 DIFERENTES MÉTODOS PARA OBTENÇÃO DO EXTRATO

Foram testadas as abordagens de extração, extração clássica utilizando os solventes, a técnica de extração assistida por enzimas, tratamentos térmicos utilizando a autoclave, e a utilização de ultrassom. Após as extrações foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos

obtidos pelos diferentes métodos através do método de DPPH, ABTS e FRAP descritos conforme o item 4.5.

#### **4.5.1 Extração clássica com solventes (ECS)**

Amostras da farinha de casca de café foram adicionadas ao *erlenmeyer* contendo os solventes acetona: água (1:1v/v) ou etanol: água (1:1v/v), na proporção 1:5 (m/v). Os frascos *erlenmeyer* ficaram sob agitação 100 rpm por 60 minutos, à temperatura ambiente. Após este intervalo as amostras foram filtradas e submetidas a rotaevaporação para remoção dos solventes. As amostras obtidas foram coletadas, congeladas, liofilizadas e armazenadas (-18 °C) em frascos de polipropileno até a execução das análises laboratoriais.

#### **4.5.2 Tratamento térmico em autoclave (TTAC)**

As misturas de farinha e água destilada na proporção 1:5 (m/v) foram submetidas a tratamento térmico em autoclave, foram testados os tempos de 15 e 30 minutos a 121°C de temperatura no tratamento da amostra de farinha de casca de café. As amostras obtidas foram coletadas, congeladas, liofilizadas e armazenadas (-18 °C) em frascos de polipropileno até a execução das análises laboratoriais.

#### **4.5.3 Extração assistida por enzimas (EAE)**

Amostras de 5g farinha de casca de café foram adicionadas ao *erlenmeyer* contendo 25 mL solução tampão acetato (100 mM, pH 5,0). Em seguida foram adicionadas as enzimas hidrolíticas Viscozyme L (endoglucanase, xilanase, celulase e hemicelulose) e Celluclast 1,5 (celulase), onde foram testadas concentrações de enzima de 0,1 e 0,5% v/v. A reação foi conduzida em banho maria com agitação a 50°C por 60 minutos. A reação foi paralisada em banho com gelo por 15 minutos, em seguida as amostras foram centrifugadas (17 000 x g por 10 minutos a 5 °C). O sobrenadante foi coletado, congelado, liofilizado e armazenado (-18 °C) em frascos de polipropileno até a execução das análises laboratoriais.

#### **4.5.4 Extração assistida por ultrassom (EAU)**

A extração assistida por ultrassom foi realizada conforme descrito Zhang et.al (2018) com

modificações. Amostras de 5g de farinha de casca de café em água destilada (1:5 m/v) foram acondicionadas em frascos e colocadas em banho ultrassonicador (modelo 1400A Unique) na frequência de 135 W durante 15 minutos. As amostras obtidas foram filtradas, coletadas, congeladas, liofilizadas e armazenadas (-18 °C) em frascos de polipropileno até que as análises laboratoriais fossem realizadas conforme o item 4.5.

#### 4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

##### 4.6.1 Capacidade sequestradora do radical DPPH

A técnica da captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) foi realizada pelo método de Bougateg *et al.*, (2009) com pequenas modificações. As amostras foram diluídas em metanol 80% (v/v) para concentração final de 0,05 g/mL. O meio reacional foi composto por 500 µL de amostra, 500 µL de metanol e 125 µL de solução de DPPH. A curva padrão será realizada com Trolox na faixa de 15 a 600 µM/mL e o resultado expresso em equivalentes de Trolox. A redução do radical DPPH foi medida a 517 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como µmol de Trolox equivalente (TE) por grama de amostra (µmol TE g<sup>-1</sup>).

##### 4.6.2 Capacidade sequestradora do radical catiônico ABTS+

A metodologia foi realizada de acordo com o método descrito em Al-duais *et al.*, (2009) com algumas modificações. O radical ABTS+ estará presente em solução será preparada utilizando o composto 2,2'-Azinobis- [3-ethylbenzothiazoline-6-suphonic acid) - diammonium salt] – (ABTS) na concentração de 7 µM e persulfato de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) (140 µM). O meio reacional foi mantido durante 12 horas em repouso, na ausência de luz e à temperatura ambiente, condições necessárias para gerar o radical ABTS+. Em seguida, a solução concentrada (contendo o radical gerado) foi diluída em água destilada para o ajuste da absorbância em 0,7 ± 0,02 a 734 nm utilizando o leitor de microplacas. Alíquotas de 20 µL de extratos das amostras e 220 µL da solução de radical ABTS+ foi incubada a temperatura 25°C na ausência de luz por 6 minutos. A absorbância foi medida a 734 nm em leitor de microplacas. A curva padrão foi preparada utilizando uma solução padrão de Trolox (0 a 400µM) e os resultados serão expressos em µmol TE g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.6.3 Potencial antioxidante redutor de ferro (FRAP)

A técnicas foram realizadas pelo método descrito por Firuzi *et al.*, (2005). Volumes de 25 µL dos extratos diluídos em água (1:10) foram misturados com 175 µL do reagente FRAP, preparado previamente e composto por TPTZ (2,4,6-tripiryridyl-s-triazine) (10 mM), cloreto férrico (20 mM) e tampão acetato (0,3M) pH 3,6. O meio reacional foi mantido a 37°C durante 30 minutos na ausência de luz. A absorbância foi determinada a 593 nm em leitor de microplacas. A curva padrão foi preparada utilizando uma solução padrão de Trolox (0 a 250 µM). Os resultados foram expressos em µmol TE g<sup>-1</sup> de amostra.

#### 4.6.4 Compostos Fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais foi baseada no método de Folin-Ciocalteu (Hnrcirik; Fritsche, 2004), que consiste na redução do ácido fosfomolibdico e fosfotungstico pelas hidroxilas dos fenóis produzindo uma coloração azul. Em um tubo *eppendorf* de 2 mL foram adicionados 50 µL de amostra (extrato 0,05g/mL), 800 µL de água destilada, 50 µL de reagente de Folin- Ciocalteu. Após agitações em vórtex a solução foi deixada em repouso por 3 minutos em ausência de luz. Em seguida foi adicionado 100 µL de solução de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 M), a solução foi homogeneizada e armazenada em ambiente escuro durante 2 horas. Após este intervalo foi realizada a leitura da absorbância a 725 nm. O branco foi realizado com água. A curva de calibração foi realizada utilizando uma solução de ácido gálico na faixa de 0,025 – 0,25 µg/mL e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente por kg de amostra (mg AGE/KG).

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Para as análises estatísticas, foi utilizado a linguagem de programação utilizando o pacote ExpDes.pt do software R, versão 4.0.3 (R Core Team, 2022). A ANOVA e testes de comparação de médias (teste de Tukey) foram conduzidos ao nível de 95% de confiança. Para analisar a diferença entre os tratamentos, adotou-se o teste de Análise de Variância (ANOVA – *one way*) para experimentos com Delineamento em Blocos Casualizados. O teste *post-hoc* para distinção dos tratamentos e repetições foi o Teste de Tukey (Ferreira; Cavalcanti; Noguera, 2014).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 PREPARO DA AMOSTRA E ANÁLISE DE CLASSIFICAÇÃO GRANULOMÉTRICA

As cascas de café do tipo *Arábica* foram recebidas no Laboratório de Bioprocessos úmidas e então foi realizada a secagem em estufa a 40°C durante 6 dias. A Tabela 1, abaixo apresenta os valores de massa e umidade inicial e final da amostra de farinha da casca de café.

**Tabela 1-** Dados amostra de café *Arábica*

<b>Massa inicial (g)</b>	4000
<b>Massa final (g)</b>	1024,99
<b>Umidade base seca (%)</b>	25,6

**Fonte:** O autor, 2022.

Após a realização da secagem as amostras foram submetidas a moagem em moinho de facas, e em seguida foi realizada a classificação granulométrica da amostra em um sistema de peneiras da série Tyler na faixa de 16 a 48 mesh. Na Tabela 2 estão dados obtidos após a análise granulométrica da amostra.

**Tabela 2-** Dados análise granulométrica farinha de café

Mesh	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )	massa retida (g)	Fração mássica	% fração mássica	Fração acumulada passante	% fração acumulada
<b>16</b>	991	*	-	-	-	-
<b>20</b>	833	514,35	0,5927	59	0,41	40,73
<b>28</b>	589	124,46	0,1434	14	0,26	26,39
<b>35</b>	417	112,47	0,1296	13	0,13	13,43
<b>48</b>	295	55,66	0,0641	6	0,07	7,01
<b>Fundo</b>	0	60,87	0,0701	7	0,00	0,00
<b>Total</b>		867,81	1	100	1	

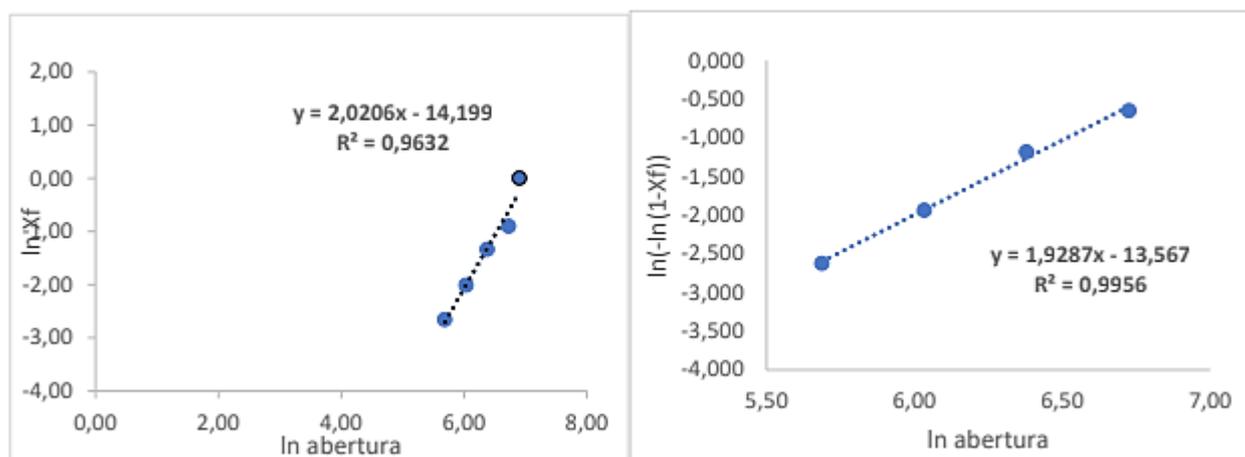
**Fonte:** O autor, 2022.

A granulometria de uma partícula pode interferir em sua absorção, no rendimento de extração entre outras variáveis. Influencia diretamente na eficiência da extração, haja vista que a estrutura tecidual das diversas partes de uma planta é heterogênea. Assim, é desejável que a granulometria seja homogênea para que a penetração de solventes no material seja facilitada (Migliato *et al.*, 2011). É um sistema de classificação muito diverso em termos de proporções onde é possível encontrar na literatura muitas variáveis a partir de sua aplicação. Segundo Ludwig *et al.*, (2014), a composição do substrato, seu tamanho de partícula granulométrico e as propriedades físico-químicas associadas, influenciam inicialmente a disponibilidade de nutrientes do meio, portanto a seleção deve levar em consideração as necessidades iniciais da cultura, bem como a sua tolerância de aplicação.

Em estudos realizados por Ma; Mu (2015) analisaram os efeitos da extração alcalina, hidrólise enzimática, em relação a distribuição de tamanho de partícula na composição química e nas propriedades estruturais, físico-químicas e funcionais de fibras dietéticas de cominho sem óleo. As fibras analisadas, com os peneirados com de malhas menores (>80 mesh) exibiram melhores propriedades físico-químicas e funcionais do que as fibras não peneiradas e diminuíram com tamanhos de malha da peneira maiores (>120 mesh), enquanto as propriedades funcionais aumentaram com o aumento do tamanho da peneira.

Com base nos dados da análise granulométrica podemos observar que a maior parte da amostra (59%) é a fração 20/28 e esta apresenta o diâmetro médio de 711 $\mu$ m. Esses dados foram aplicados modelos matemáticos ajustados aos dados experimentais foram o de Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS) (equação 1) e o de Modelo de Rosin- Rammler-Bennet (RRB) (equação 2) para avaliar a distribuição do conjunto de partículas da farinha de casca de café obtida após o processo de moagem. Para obtenção dos parâmetros dos modelos de distribuição granulométrica foi necessário realizar a linearização dos dois modelos, fazendo o uso das equações 3 e 4. Na Figura 3 está representado o comportamento granulométrico da farinha de casca de café através dos 2 modelos.

**Figura 3-** (a) Regressão Linear da equação GGS e (b) Regressão linear da equação RRB da farinha de casca de café.



**Fonte:** O autor, 2022.

O modelo que melhor se ajustou a granulometria da farinha de casca de café foi o RRB, pois apresentou um coeficiente de determinação de 0,9956, como apresentado na Figura 3.

Para prosseguir com as extrações foram selecionadas 2 frações com granulometrias diferentes para realizar os diferentes métodos de extração, identificadas como A (0,912 mm) e B (> 0,295 mm), (selecionadas para representar um parcela da farinha mais grossa e outra mais fina, a fim de identificar uma possível interferência, ou não) e armazenadas em freezer.

## 5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Foram testadas os diferentes métodos de extração, sendo elas, a extração clássica com solventes (ECS); a técnica de extração assistida por enzimas (EAE), tratamentos térmicos utilizando a autoclave e utilização de ultrassom.

Os tratamentos, identificação e condições de extração estão resumidos na Tabela 3.

**Tabela 3-** Estratégias de extração e identificação das amostras

<i>Tratamento</i>	<i>Métodos</i>	<i>Solvente</i>	<i>Tempo (min)</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Agitação (rpm)</i>
1	Clássica	etanol:agua (1:1)	60	25°C	100
2	Clássica	acetona:agua (1:1)	60	25°C	100
3	Térmica	Água	15	121	0
4	Térmica	Água	30	121	0
5	Enzima Viscozyme L 0,1 %	solução tampão acetato (100 mM, pH 5,0)	60	50	150
6	Enzima Viscozyme L 0,5 %	solução tampão acetato (100 mM, pH 5,0)	60	50	150
7	Enzima Celluclast 1,5 L 0,1 %	solução tampão acetato (100 mM, pH 5,0)	60	50	150
8	Enzima Celluclast 1,5 L 0,5 %	solução tampão acetato (100 mM, pH 5,0)	60	50	150
9	Ultrassom - frequencia 135 W	Água	15	60	0

**Fonte:** O autor, 2022.

Foram produzidas amostras controle nas mesmas condições das extrações para comparação dos resultados. Nessas amostras foram realizadas as análises de determinação de compostos fenólicos totais, e determinação de atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, FRAP e ABTS, e concentração mínima inibitória de microrganismos patogênicos.

Foi utilizado um delineamento de blocos casualizados (DBC) com 3 repetições, sendo que os tratamentos corresponderam as formas de obtenção dos extratos, totalizando 12 condições, e os blocos as duas granulometrias avaliadas. Desta forma pôde-se avaliar o efeito dos métodos de extração e da granulometria nas atividades antioxidantes avaliadas.

### 5.3 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos na natureza, são metabólitos secundários das plantas geralmente envolvidos em mecanismos de defesa da planta contra patógenos e quimicamente possuem um ou mais anéis aromáticos e um ou mais grupos hidroxil

(Dai E Mumper, 2010; Cardador-Martínez *et al.*, 2014).

Segundo Arnosó *et al.*, (2019), os compostos fenólicos são geralmente a maior fonte de antioxidantes na alimentação humana, no entanto, para exercer essa função antioxidante e seus benefícios concomitantes, são necessários digestão, absorção e metabolismo eficientes desses compostos. Geralmente são muito influenciados pelas suas características físico- químicas como qual é o tipo do bioativo e sua polaridade.

Em pesquisas realizadas por Magalhães; Reis; Fernandes (2018), relata que as extrações de compostos fenólicos apresentam melhores interações e resultados com utilização de compostos polares, comparado a outras extrações, realizados em diversas qualidades de azeite de oliva, azeitonas e folhas de oliveira afim de extrair o Tirosol de ambas.

Na Tabela 4, podemos observar os resultados da análise de determinação de Compostos Fenólicos Totais expressos em concentração de ácido gálico (mg/g).

**Tabela 4-** Resultado para Compostos fenólicos totais em extrato de casca de café.

Tratamento	Compostos Fenólicos Totais	
	A (0,912mm) Ac. Gálico mg/g	B (> 0,295 mm) Ac. Gálico mg/g
clássica solvente etanol	13,2 ± 0,2 <sup>g</sup>	25,6±0,5 <sup>de</sup>
clássica solvente acetona	14,1 ± 0,7 <sup>fg</sup>	11,8 ± 0,4 <sup>i</sup>
térmica - 15 min	21,8 ± 0,5 <sup>bc</sup>	31,8 ± 0,4 <sup>a</sup>
térmica - 30 min	18,3 ± 0,7 <sup>e</sup>	30,9 ± 0,05 <sup>ab</sup>
Enzima Viscozyme L 0,1 %	24,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	25,2 ± 0,7 <sup>de</sup>
Enzima Viscozyme L 0,5 %	22,7 ± 0,9 <sup>ab</sup>	26,9 ± 1,9 <sup>cd</sup>
Enzima Celluclast 1,5 L 0,1 %	14,8 ± 0,3 <sup>f</sup>	22,9 ± ,015 <sup>fg</sup>
Enzima Celluclast 1,5 L 0,5 %	21,3 ± 0,5 <sup>bc</sup>	24,1 ± 0,5 <sup>ef</sup>
Ultrassom - frequência 135 W	19,2 ± 0,2 <sup>de</sup>	28,9 ± 0,4 <sup>bc</sup>
Controle - água Tt1	18,1 ± 0,6 <sup>e</sup>	21,4 ± 0,16 <sup>g</sup>
Controle - água Tt5	18,4 ± 0,5 <sup>e</sup>	26,3 ± 0,9 <sup>de</sup>
Controle - água Tt9	20,4 ± 0,3 <sup>cd</sup>	18,4 ± 0,4 <sup>h</sup>

**Fonte:** O autor, 2022.

\* os resultados foram expressos em média (triplicata) e desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os resultados do teste Tukey para cada determinação e granulometria de casca de café.

Foi realizada a análise de delineamento de blocos casualizados (DBC) para constatar se houve efeito de bloco e após a análise foi realizada o teste de Tukey para verificação se houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

**Tabela 5** Anova DBC Compostos Fenólicos totais,

	GL	SQ	QM	F valor	p-valor
Tratamento	11	949,48	86,32	10,846	1,3992e <sup>-10</sup>
Bloco	1	574,02	574,02	72,126	8,0740e <sup>-12</sup>
Resíduo	59	469,55	7,96		
Total	71	1993,04			

**Fonte:** O autor, 2022.

\*CV= 13%

Como podemos observar pela ANOVA do DBC, a um nível de 5 % de significância, houve diferença significativa entre os tratamentos de extração utilizados e o efeito de bloco também foi significativo. Indicando que a granulometria influenciou na extração dos compostos fenólicos das amostras. Em seguida, foi realizado o teste de Tukey para cada granulometria (bloco), como podemos observar os resultados na Figura 3.

Baseado nesses resultados podemos perceber que a melhor estratégia de extração de compostos fenólicos presentes na farinha de casca de café, foi a extração assistida pela enzima Viscozyme na amostra A de granulometria (0,912 mm) quando utilizada nas duas concentrações 0,1% (24,2 mg/g) e 0,5% (22,7 mg/g). Enquanto a extração menos eficaz foi, a extração clássica utilizando etanol como solvente de extração (13,2 mg/g). Apesar de ser o método mais comum, a extração utilizando solventes depende de muitos fatores como a polaridade do solvente, tempo, temperatura e razão solvente-amostra para ser bem sucedido. A solubilidade dos compostos fenólicos é fortemente afetada pela composição química da matriz pela polaridade do solvente (Dai, J.; Mumper, 2010). O etanol é um solvente muito utilizado, devido ao seu custo e segurança de manuseio, entretanto em excesso pode causar hidrólise de acil e resíduos de açúcares (Revilla, Ryan, Martin-Ortega, 1997).

Segundo Krakowska-Sieprawska (2021) cada enzima tem uma faixa específica de pH, temperatura e outros fatores para funcionar adequadamente. Esses parâmetros que afetam a liberação enzimaticamente assistida de compostos biologicamente ativos, que precisam ser otimizados para cada processo de extração específico.

Existem várias misturas enzimáticas comerciais disponíveis (por exemplo, Viscozyme L®, Lallzyme®, Kemzyme® Plus, Multizyme® e Ultrazym®). Viscozyme L® é um complexo multi-enzimático contendo arabinase, celulase,  $\beta$ -glucanase, hemicelulase e xilanase. (Nguyen; Ziemichód; Olech, 2022).

Santos; Ferrari (2005) avaliaram o desempenho de enzimas comerciais Alcalase (protease) e Celluclast (celulase) durante a extração de água de óleo de soja, e o efeito da

concentração da enzima, tempo de extração e diluição da amostra (soja) no rendimento final.

Quatro experimentos de extração foram realizados onde mostraram que a variável mais importante ao longo do processo de extração foi com a maior diluição da amostra. Já a extração com água foi inferior à extração com solvente. O aumento na concentração enzimática das enzimas comerciais no decorrer da pesquisa aliada ao tempo de extração se mostrou eficiente pois favoreceu o rendimento da amostra.

Em estudos realizados por Waliszewski, *et al.*, (2007) relatam sobre o uso da extração soxhlet utilizando etanol de maneira individual se mostrou pouco eficaz para a extração de feijão baunilha, no entanto foi realizado um pré-tratamento enzimático utilizando enzima comercial (Viscozyme® seguido de Celluclast®), onde foi possível notar uma melhora significativa na extração e recuperação da baunilha e um maior rendimento final.

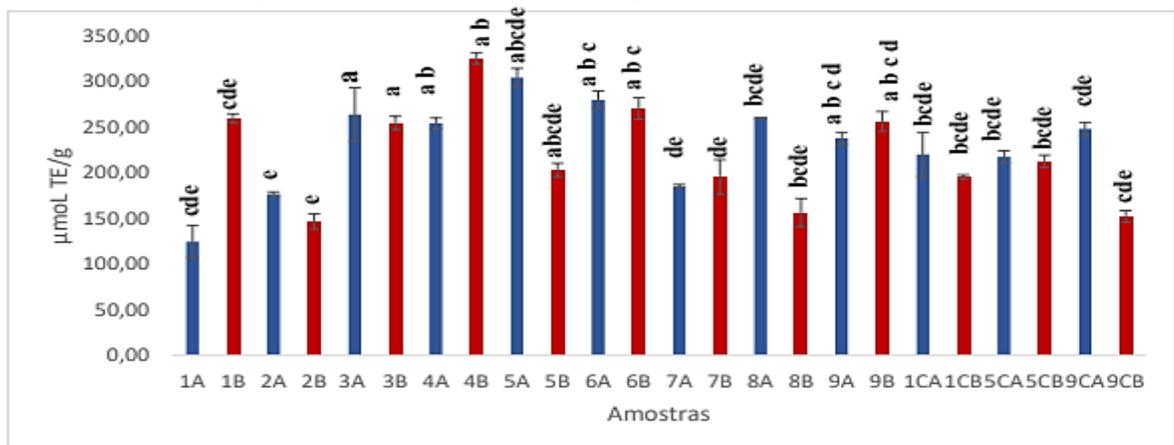
O método de extração em autoclave trata-se de um método eficaz na lise celular o que facilita a solubilização dos compostos bioativos no solvente aplicado. O fato de este método utilizar água como solvente apresenta vantagens, uma vez que torna o processo mais eficiente e viável, quer economicamente, quer ecologicamente (Gil, 2020).

De uma maneira geral analisando a Tabela 4 podemos perceber que as concentrações de compostos fenólicos obtidos com a farinha de menor granulometria foram superiores para todas as estratégias de extração com exceção da extração clássica utilizando acetona como solvente. O que foi confirmado pelo efeito significativo de bloco evidenciado pelo DBC.

#### 5.4 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPACIDADE SEQUESTRADORA DO RADICAL DPPH

Na Figura 4, podemos observar os resultados da análise de determinação de atividade antioxidante pelo método DPPH expressos em  $\mu\text{mol TE/g}$ .

**Figura 4-** Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH.



Fonte: O autor, 2022.

Foi realizada a análise de delineamento de blocos casualizados (DBC) para constatar se houve efeito de bloco e após a análise foi realizada o teste de Tukey para verificar se houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

**Tabela 6-** ANOVA DBC Atividade antioxidante DPPH,

	GL	SQ	QM	F valor	p-valor
Tratamento	11	125002	11363,8	6,2332	0,00000
Bloco	1	898	898,3	0,4927	0,48548
Resíduo	59	107563	1823,1		
Total	71	233463			

**Fonte:** O autor, 2022.

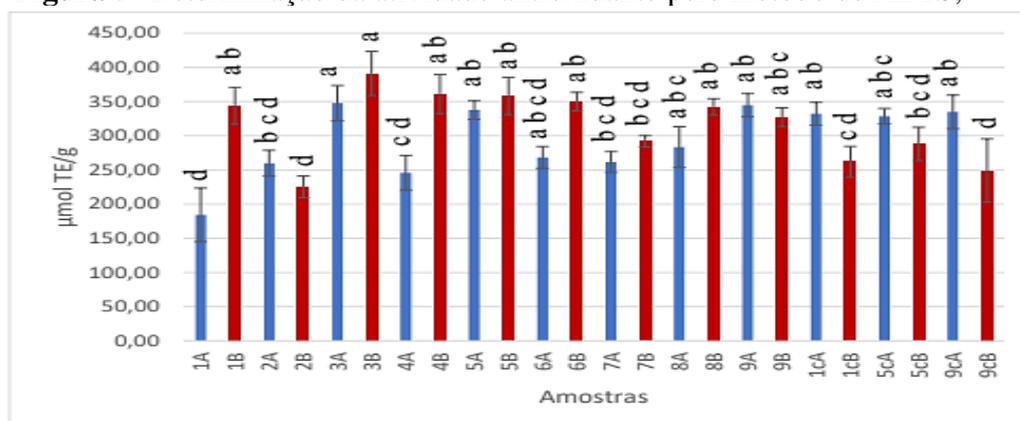
\*CV= 18,82%

Após a realização da análise estatística dos dados obtidos pela análise de DPPH, podemos observar que o efeito dos tratamentos foi significativo. Entretanto, o efeito de bloco, ou seja, das granulometrias não foi significativo. Então dentre as técnicas de extração aplicadas, a extração utilizando autoclave por 15 minutos (343,5  $\mu\text{mol TE/g}$ ) foi a estratégia mais eficiente para aumento da atividade antioxidante, seguida pela extração assistida por enzima utilizando a enzima Viscozyme L 0,1% (304,2  $\mu\text{mol TE/g}$ ).

## 5.5 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPACIDADE SEQUESTRADORA DO RADICAL CATIONICO ABTS+

Na Figura 5, verificamos os resultados da análise de determinação de atividade antioxidante

**Figura 5-** Determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS,



**Fonte:** O autor, 2022.

Para a análise de ABTS<sup>+</sup>, ao observar os dados mostrados pela ANOVA (Tabela 7), a um nível de 5 % de significância, houve diferença significativa entre os tratamentos de extração utilizados e o efeito de bloco também foi significativo. Indicando que a granulometria influenciou na extração dos compostos fenólicos das amostras. Para a amostra A e B o tratamento mais efetivo foi o mesmo, extração utilizando a autoclave por 15 minutos sendo as atividades 347,8 e 391,2  $\mu\text{mol TE/g}$ , respectivamente. E as menores atividades antioxidante pelo método ABTS<sup>+</sup> foram obtidas pela extração clássica com etanol (184,3  $\mu\text{mol TE/g}$ ) e acetona como solvente (225,4  $\mu\text{mol TE/g}$ ) para granulometria maior e menor, respectivamente.

**Tabela 7-** Anova DBC Atividade antioxidante ABTS,

	GL	SQ	QM	F valor	p-valor
Tratamento	11	81919	7447.1	3.4426	0.000967
Bloco	1	8523	8522.6	3.9397	0.051814
Resíduo	59	127631	2163.2		
Total	71	218072			

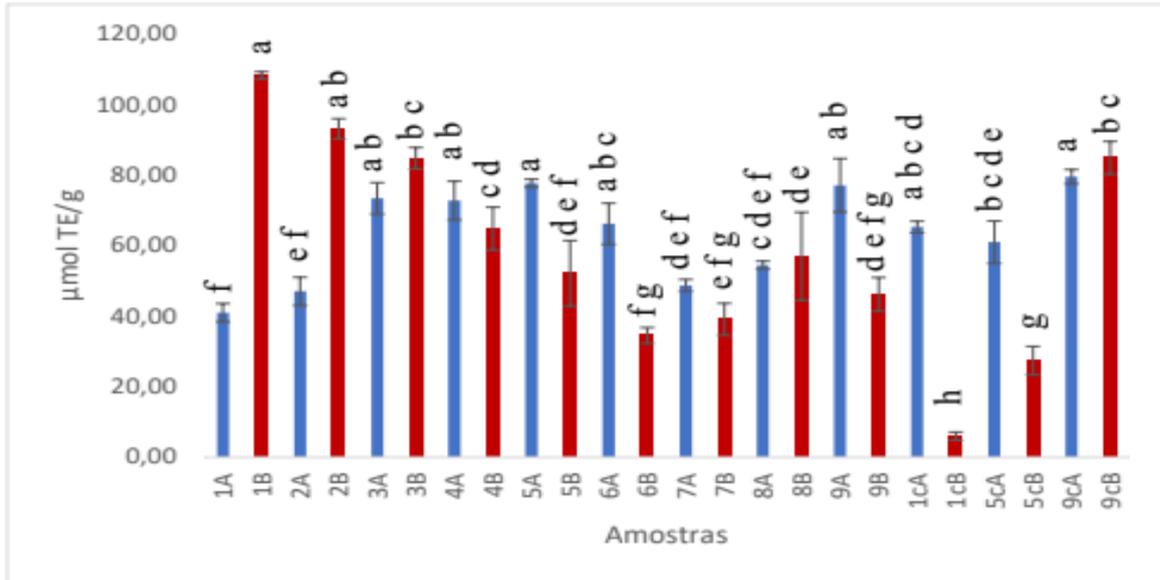
**Fonte:** O autor, 2022.

\*CV= 15,25%

## 5.6 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE POTENCIAL ANTIOXIDANTE REDUTOR DE FERRO (FRAP)

Na Figura 7, podemos observar os resultados da análise de determinação de atividade antioxidante pelo método FRAP expressos em  $\mu\text{mol TE/g}$ .

**Figura 7-** Determinação da atividade antioxidante pelo método de FRAP.



Fonte: O autor, 2022.

**Tabela 8-** Anova: DBC Atividade antioxidante FRAP,

	GL	SQ	QM	F valor	p-valor
Tratamento	11	14886	1353.27	3.5200	0.00079
Bloco	1	543	543.35	1.4133	0.23927
Resíduo	59	22683	384.45		
Total	71	38112			

Fonte: O autor, 2022.

\*CV= 32,19%

Para a análise antioxidante de FRAP, após realização do DBC, a análise da ANOVA demonstrou que o efeito de bloco não foi significativo, somente os tratamentos foram significativos. Para a amostra A (0,912 mm) a melhor e menor atividades antioxidante determinada pelo método FRAP foi a extração assistida pela enzima Viscozyme L 0,1 % (77,6  $\mu\text{mol TE/g}$ ) e a extração clássica utilizando etanol como solvente (40,9  $\mu\text{mol TE/g}$ ), respectivamente. E para a granulometria mais fina B ( $> 0,295$  mm) a atividade antioxidante mais alta e mais baixa foram a extração clássica utilizando etanol como solvente (108,2  $\mu\text{mol TE/g}$ ) e o controle feito somente com água destilada (5,9  $\mu\text{mol TE/g}$ ).

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A escolha do método de extração é uma etapa crucial para recuperação de compostos fenólicos. Dentre eles, os métodos verdes como uso de autoclave e de enzimas possuem um enorme potencial para obtenção de extratos com maior atividade antioxidante, utilizando menos energia, ou seja, causando menor degradação ao meio ambiente. Nesse trabalho a enzima Viscozyme L (Novozymes) e os métodos térmicos (autoclave) apresentaram os melhores desempenhos quando comparados aos métodos clássicos, para extração de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, CAROLINE. **Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulases produzidas pelo fungo aspergillus niger**. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - UNIOESTE, Toledo, 2010.
- AL-DUAIS, M. et al. Capacidade antioxidante e fenólicos totais de *Cyphostemma digitatum* antes e após processamento: uso de diferentes ensaios. **Revista Pesquisa e Tecnologia Alimentar Europeia**, Recife, PE, v. 228, n. 8 p.813-821, jan/2009.
- ANDRADE, KATIA. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir de casca e de borra de café**. 2011. 129 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos.) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2011.
- ARAUJO, N.G. *et al.* Extração de compostos bioativos da polpa de jambo com diferentes tipos de solventes. **Revista Investigação, Sociedade e Desenvolvimento**, [s. l.], v. 10, n. 10, 23 jul. 2021.
- ARNOSO, B. *et al.* Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Revista Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, RJ, v. 8, n. 1, p. 39-48, jan. 2019.
- ATENCIO, S. *et al.* “Impacto do Processamento na Produção de uma Cucurbita Rica em Carotenóides Maxima Cv. Suco de Abóbora Hokkaido. **Revista Química de Alimentos**, [s. l.], v. 380, p. 132191, 30 jun 2022.
- BABBAR, N. *et al.* Potencial terapêutico e nutracêutico de compostos bioativos extraídos de resíduos de frutas. **Revista Revisões críticas em ciência de alimentos e nutrição**, [s. l.], v. 55, n 18, p. 319-337, set. 2014.
- BALARAMAN, H.B. *et al.* Valorização Sustentável de Cascas de Mamão para Isolamento de Protease de Cisteína Trombolítica por Microextração de Fase Líquida Disruptiva Assistida por Ultrassom com Solventes Eutéticos Naturais Profundos Comutáveis Específicos para Tarefas. **Revista Microquímica**, [s. l.], v. 175, p. 107118, abr/2022.
- BARBOSA, MARIANA M. **Produção de etanol a partir da palha de cevada**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola Superior de Tecnologia e de Gestão, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, SP, 2011.
- BARRETO, A. R. *et al.* Obtenção de xilooligossacarídeos por resíduos lignocelulósicos: alternativa para produção de compostos funcionais para alimentos. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, RS, v. 19, n. 3, p. 821-836, dez./2005.
- BOEIRA, C. P. N. *et al.* Extração de compostos bioativos de capim-limão, atividade antioxidante e avaliação da atividade antimicrobiana em linguiça frescal de frango. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 48, n 11, p. 8, nov/2018.

BONA, A. M. *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Revista Farmacologia**, São Paulo, SP, v.81, n.3, p. 218-225, fev/2014.

BORTOLUZZI; C. P, C, *et al.* Agregação de solo subtropical sob calagem: um estudo por difração a laser. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 2010, [s. l.], v. 34, n 10, p. 725-734, ago/2010.

BRAGATTO, J.; SEGATO, F.; SQUINA, F. M. Produção de xilooligossacarídeos (XOS) a partir de bagaço de cana-de-açúcar deslignificado pelo processo de peróxido-HAc utilizando xilanase recombinante de *Bacillus subtili*. **Revista Culturas e Produtos Industriais**, [s. l.], v. 51, p.123–129, nov/2013.

BROADHURST; J. W.T. Análise de taninos condensados usando vanilina acidificada. **Revista da Ciência da Alimentação e Agricultura**, [s. l.], v. 29, p. 788-94, 1978.

BRUM, S. S. **Caracterização e modificação química de resíduos sólidos do beneficiamento do café para produção de novos materiais**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFLA, Lavras, 2007. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/6746>.

BUDARAJU, S. *et al.* Efeito de pré-tratamentos no potencial antioxidante de extratos fenólicos de radículas de malte de cevada. **Revista Química de alimentos**, [s. l.], v. 266, n. 7, p. 31-37, nov. 2018.

CAMARGO, A.C, *et al.* Extração enzimática de fenólicos de subprodutos da vinificação: Potencial antioxidante e inibição das atividades de alfa-glicosidase e lipase. **Revista Química de Alimentos**, Petrolina, PE, v. 212, p. 395-402, dez/2016.

CAMARGO, A.C. *et al.* A radiação gama induziu alterações no estado microbiológico, perfil fenólico e atividade antioxidante da casca do amendoim. **Revista de Alimentos Funcionais**, [s. l.], v. 12, p. 129-143, jan/2015.

CARVALHO, A. F. A. *et al.* Xilooligossacarídeos de materiais lignocelulósicos: Estrutura química, benefícios à saúde e produção por hidrólise química e enzimática. **Revista Internacional de Pesquisa de Alimentos**, Campinas, SP, v. 51, n. 1, p. 75-85, nov./2011.

CESAR, L. A *et al.* **Pesquisas comprovam benefícios do café à saúde humana**. v1, n 12, p.112-114, Jan/jul 2013. Disponível em:<https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va12-qualidade-da-bebida03.pdf> Acesso em: 10 abr. 2022.

CONAB. O Café Brasileiro na Atualidade. ABIC-Associação Brasileira da Indústria do Café, 28 de jun. 2021. Disponível em: <https://www.abic.com.br/tudo-de-cafe/o-cafe-brasileiro-na-atualidade/>. Acesso em: 18 dez. 2021.

CONSORCIO PESQUISA CAFE. **Maior qualidade, produtos diferenciados e novos**

**momentos de consumo incrementam a demanda da bebida no País**, 04 de fev/2019. Disponível em: [http://consorcioquesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/Press\\_release\\_consumo\\_fin\\_al\\_vs\\_04\\_02\\_19.pdf](http://consorcioquesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/Press_release_consumo_fin_al_vs_04_02_19.pdf). Acesso em: 14 abr. 2020.

CONSTANT, P.B.L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açai (Euterpe oleraea, M.)**. 2003. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - UFV, Viçosa, MG. 2003.

DURÁN, C. A. A, *et al.* Café: Aspectos Gerais e seu Aproveitamento para além da Bebida. **Revista Virtual Química**, Rio de Janeiro, RJ, v. 9, p. 107-134, nov/2017.

EMBRAPA. **Café arábica corresponde a 70% e café conilon a 30% da produção dos Cafés do Brasil em 2019**, 03 de set 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/47028493/cafe-arabica-corresponde-a-70-e-cafe-conilon-a-30-da-producao-dos-cafes-do-brasil-em-2019>. Acesso em: 9 abr. 2020.

EMBRAPA. **Cafés do Brasil Pesquisa, sustentabilidade e inovação**, 2021. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1131625/1/Cafe769s-do-Brasil.pdf>.

EMBRAPA. **Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia**, 2004. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54346/1/Doc93-cafe.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2021.

ESCRICHE; BORRÁS. Padronização da análise do perfil fenólico em própolis. **Revista Internacional de Pesquisa de Alimentos**, [s. l.], v. 106, p 834-841, abr/2018.

ESQUIVEL, V. B. *et al.* Subprodutos de café (*Coffea arábica* L.) como fonte de carotenoides e compostos fenólicos - avaliação de variedades com diferentes cores de casca. **Revista Alimentares Sustentáveis**, [s. l.], v. 4, p. 13, nov/2020.

FARIA; ALEXANDRE CARLOS DOS SANTOS, MANOLESCU; FRIEDHILDE M.K. A produção de café no brasil. **Encontro latino-americano de iniciação científica**, 1., 2004, Vale do Paraíba: Universidade do Vale do Paraíba 2004. p. 621-626.

FERNANDES, G. **Extração e purificação de cafeína da casca de café**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, MG. 2007.

FIRUZI, O. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides por ensaio de “poder antioxidante redutor férrico” e voltametria cíclica. **Revista Bioquímica e Biofísica (BBA) - Assuntos Gerais**, [s. l.], v. 1721 n. 3, p. 174-184, jan/2005.

FREEDMAN, N.D. *et al.* Associação do consumo de café com mortalidade total e por causa

específica. **Revista de Medicina da Nova Inglaterra**, Los Angeles, CA, v.366, p. 1891-1904, mai/2012.

GHIMIRE, B. K. *et al.* Avaliação de compostos fenólicos e atividades antimicrobianas em plantas transgênicas de *Codonopsis lanceolata* via superexpressão do gene  $\gamma$ -tocoferol metiltransferase ( $\gamma$ -tmt). **Revista Sul-Africana de Botânica**, [s. l.], v. 109, p. 25-33, mar/2017.

GIL, SORAIA. **Extração e caracterização de componentes bioativos de *Phaeodactylum tricornutum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Biológica), ISEL, Lisboa, 2020.

GÍRIO, F. M. *et al.* Hemiceluloses para etanol combustível: uma revisão. **Revista Tecnologia de biorecursos**, Lisboa, PT, v. 101, n. 13, p.4775-4800, jul/2010.

GOWDHAMAN, D; PONNUSANI, V. Produção e otimização de xilooligossacarídeos da espiga de milho por bacillus aerophilus KGJ2 xilanase e seu potencial antioxidante. **Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas**, [s. l.], v. 79, p. 595–60, mai/2015.

GUERRIERO, G. *et al.* Biomassa lignocelulósica: Biossíntese, degradação e utilização industrial. **Revista Engenharia em Ciências da Vida**, [s. l.], v. 16(1), p. 1-16, set/2016.

HEEMANN, A.C.W *et al.* Extração de polifenóis de erva-mate verde assistida por enzimas. **Revista Tecnologia em Alimentos**, Curitiba, PR, v. 22, p 1-10, 2019.

JAIN, I., *et al.* Xilooligossacarídeos: uma solução econômica prebióticos de agrotóxicos seus benefícios à saúde. **Revista Indian J. Exp. Biol**, [s. l.], v. 53, p. 131 - 142 (28), 2015.

JEAN, B. *et al.* **Métodos para testes de Susceptibilidade Antimicrobiana de Diluição para Bactérias que Crescem Aerobicamente**. 10 ed. Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais, 2015.

JUNIOR, S.V. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais uma abordagem sustentável**. Brasília, DF: EMBRAPA AGROENERGIA, 2020 Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1126255/1/S-VAZ-Aproveitamento-de-resi769duos-agroindustriais.pdf> Acesso em: 20 ago. 2022.

KRAKOWSKA-SIEPRAWKA, A., *et al.* Tecnologia Verde Promissora na Obtenção de Preparações de Plantas Funcionais: Extração Combinada de Fluido Supercrítico Assistida por Enzima de Isolamento de Flavonóides da Medicago Folhas Sativas. **Revista Materiais**, [s. l.], v.14, p.2724, mai/2021.

LAJOLO, F.M, *et al.* **Alimentos Funcionais e Compostos Bioativos: Ciência, Avaliação e Consumo**. São Paulo: ILSI BRASIL, 2019. *E-book* Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/340364223\\_Alimentos\\_Funcionais\\_e\\_Compostos\\_Bioativos\\_ciencia\\_avaliacao\\_e\\_consumo](https://www.researchgate.net/publication/340364223_Alimentos_Funcionais_e_Compostos_Bioativos_ciencia_avaliacao_e_consumo). Acesso em: 20 jul. 2022.

LIMA, L. *et al.* Utilização de resíduo oriundo da torrefação do café na agricultura: em substituição a adubação convencional. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, [s. l.], v.10, n. 1, 2014.

LUDWIG, F.; GUERRERO, A. C.; FERNANDES, D. M. Caracterização física e química de substratos formulados com casca de pinus e terra de subsolo. **Revista Cultivando o Saber**, [s. l.], v.7, n. 2, p. 152-162, 2014.

MA, M; MU, T.H. Efeitos dos métodos de extração e distribuição de tamanho de partícula nas propriedades estruturais, físico-químicas e funcionais da fibra dietética de cominho sem óleo. **Revista Química Alimentar**, [s. l.], v.194, n.1, p. 237-246, mar/2016.

MAGALHÃES, R.A; REIS, G, E; FERNANDES, V.V. Composto Bioativo Tiroso. **Revista Científica Protagonista**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 27-29, 2019.

MAKRIS, D.P.; BOSKOU, D. Antioxidantes derivados de plantas como aditivos alimentares. **Revista Plantas como fonte de antioxidante natural**, [s. l.], v.1, p. 169–190, jan/2014.

MANOUSAKI; JANCHEVA; *et al.* Extração de fenólicos antioxidantes da biomassa de resíduos agroalimentares usando uma mistura de temperatura de baixa transição natural à base de glicerol recentemente projetada: uma comparação com solventes ecologicamente corretos convencionais. **Revista Gestão de Resíduos Orgânicos**, [s. l.], v. 1, p. 194–204, jun/2016.

MANRICH, A. *et al.* **Caracterização de resíduos de café**. In: 9ª JORNADA CIENTÍFICA – EMBRAPA, 1., 2017 São Carlos, SP. Anais da Jornada, São Carlos: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, 2017. p 22. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/167029/1/p-22-Characterizacao-de-residuos-de-cafe.pdf>

MARTINS, A. Compostos fenólicos bioativos: Produção e extração por fermentação em estado sólido. **Revista Biotecnologia Avançada**. [s. l.], v. 29. p.365-373, 2011.

MENDES, L.P.M.; MACIEL, K.M.; VIEIRA, A.B.R.; MENDONÇA, L.C.V.; SILVA, R.M.F.; ROLIM-NETO, P.J.; BARBOSA, W.L.R.; VIEIRA, J.M.S. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 121-125, 2011.

MIGLIATO, F.C *et al.* Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) skeels. **Revista Química Nova**, [s. l.], v.34, n4, out/2011.

MIGUEL, M. G. **Plantas aromáticas e medicinais como antioxidantes naturais: métodos de análise**. In: Figueiredo A. C., Barroso J. G. P. Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais- Curso Teórico-prático, Lisboa. Ed. 3, 2007. p. 106-136

MILESSI, T. *et al.* Produção enzimática de xilooligossacarídeos (XOS): a partir de bagaço de cana-de-açúcar. **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA**,

Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, v. 1, n. 1, p. 1-4, dez./2018. Disponível em: <https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/produo-enzimtica-de-xilooligossacardeos-xos-a-partir-de-bagao-de-cana-de-acar-29280>

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Gestão sustentável de subprodutos da indústria do café e agregação de valor - Uma revisão. Recursos, Conservação e Reciclagem. **Revista Recursos, Conservação e Reciclagem**, [s. l.], v. 66, p. 45-58, set/2012.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Recuperação de antioxidantes fenólicos e compostos funcionais de subprodutos da indústria do café. **Revista de Tecnologia de Alimentos e Bioprocessos**, [s. l.], v. 5, p. 897–903, mai/2010.

NABARLATZ, D.; EBRINGEROVÁ, A.; MONTANÉ, D. Autohidrólise de subprodutos agrícolas para a produção de xilo-oligossacarídeos. **Revista Polímeros de Carboidratos**. [s. l.], v.69, n. 1, p. 20–28, 2007.

NAFFATI, A. *et al.* Reciclagem de subprodutos da indústria de chá de filtro: Aplicação de extração de água subcrítica para recuperação de compostos bioativos do pó de A. uva-ursiherbal. **Revista de Fluidos Supercríticos**, [s. l.], v.121, p.1–9, 2017.

NGUYEN A.Y; ZIEMICHÓD W; OLECH M. Aplicação de Extração Enzimática para Recuperação de Compostos Bioativos Naturais para Nutracêuticos e Aplicações Farmacêuticas. **Revista Ciências Aplicadas**, [s. l.], v. 12, n.3232, p. 1-20, mar/2022.

NITHIYANANTHAMA, S.; SIDDHURAJUA, P.; FRANCIS, G. - Uma abordagem promissora para aumentar o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante de extratos de farinha de sementes de *Jatropha curcas* L. crus e processados. **Revista Culturas e Produtos Industriais**, [s. l.], v. 43, p. 261–269, mai/2013.

OLIVEIRA D. S. **Nova metodologia para extração de compostos fenólicos de vinho tinto e avaliação da estabilidade dos extratos obtidos**. 2014. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2014.

PANDEY, A, *et al.* Potencial biotecnológico da polpa e casca de café para bioprocessos. **Revista de Engenharia Bioquímica**, [s. l.], v. 6, p. 153-162, out/2000. -

PERALBO-MOLINA, Á.; DE CASTRO, M.D.L. Potencial de resíduos da agricultura mediterrânea e da indústria agroalimentar. **Revista Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 32, p. 16–24, jul/2013.

QUEIROZ, S.N. C, *et al.* Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica, **Revista Química Nova**, [s. l.], v1 p. 1, fev/2001.

RAMALHO, M. E. O.; SOARES, N. M. Café e seus benefícios. **Revista Interface Tecnológica**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 285-292, 2018.

RODRIGUES, C. *et al.* Materiais lignocelulósicos como matéria-prima para obtenção de biomoléculas de valor comercial. **Revista Biotecnologia Aplicada à Agro & Indústria**, [s. l.], p. 284-314, 2017.

RODRIGUES, H. L.; DIAS; TEIXEIRA, N. D. C. A Origem do Café no Brasil: A Semente Que Veio Para Ficar. **Revista Pensar Gastronomia**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 1-22, jul./2015.

RODRIGUES, S. *et al.* Desenvolvimento do café arábica (*coffea arabica*) submetido a diferentes lâminas de irrigação: nas condições do estado de Rondônia. **Revista Ciência e tecnologia globais**, Rolim de Moura, RO v. 3, n. 1, p. 44-49, abr./2010.

RODRÍGUEZ A, SÁNCHEZ R, REQUEJO A, FERRER A. Viabilidade da palha de arroz como matéria-prima para a produção de polpa de celulose soda. **Revista de Produção Mais Limpa**, [s. l.], v. 18, p.1084-1091, jul/2010.

SALINARDI, T.C.; *et al.* Os mano-oligossacarídeos do café, consumidos como parte de uma dieta de vida livre e de manutenção de peso, aumentam 76 a redução proporcional do volume corporal em homens com sobrepeso. **Revista Nutrição**, [s. l.], v. 140, p. 1943-1948, 2010.

SANTOS, R.D; FERRARI R.A. Extração aquosa enzimática de óleo de soja. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Ponta Grossa,PR, v.25, n.1, p.132-138, mai/2005.

SAXENA, R. C.; ADHIKARI, D. K.; GOYAL, H. B. Combustível energético à base de biomassa através de rotas bioquímicas: Uma revisão. **Revisões de energia renovável e sustentável**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 167–178, jan/2009.

SEMEDO, J. N. *et al.*, Respostas do café à seca, aquecimento e alta [CO<sub>2</sub>] em um contexto decenários futuros de mudanças climáticas. **Revista Gestão de Mudanças Climáticas**, [s. l.], p. 465–477, 2018.

SENAR, **Café: colheita e pós-colheita**, Brasília, v.1, p. 104, jan/2022.

SILVA, A.C; JORGE N. Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. **Revista Ciências da Saúde**, São Paulo, SP, v. 13, p. 375-84, 2011.

SILVA, O. M. C, *et al.* Potencial uso da casca de café como constituinte de substrato para produção de mudas de espécies florestais. **Revista Ciência Florestal**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 1161-1175, dez/2020.

SOUZA, M. E. A. O, *et al.* Determinação da capacidade antioxidante do extrato do pó da casca do abacaxi aplicando diferentes técnicas de extração. **Revista Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [s. l.], v. 10, n. 10, ago/2021.

SOUZA, M. E. A. O, *et al.* Influência de diferentes técnicas de extração sobre a capacidade antioxidante do da casca de melancia desidratada. **Revista Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [s. l.], v. 10, n. 13, out/2021.

TALEBNIA, F.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI. Produção de bioetanol a partir de palha de trigo: uma visão geral sobre pré-tratamento, hidrólise e fermentação. **Revista Tecnologia de biorecursos**, [s. l.], v. 101, n. 13, p. 4744–4753, jul/2010.

TRAJANO, H. L., & WYMAN, C. E. Fundamentos do pré-tratamento de biomassa em baixo pH. Pré-tratamento aquoso de biomassa vegetal para conversão biológica e química em combustíveis e produtos químicos, **Revista seja suplementar: biocombustíveis lignocélulas**,

[s. l.],v.1, p. 103-128, jan/2013.

VÁZQUEZ, M.J. *et al.* Xilooligossacarídeos: fabricação e aplicações. **Revista Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v.11, p.387-393, 2000.

VENTURIM, J. B. **Gestão de resíduos orgânicos produzidos no meio rural: o caso do beneficiamento do café.** 2002. Tese (Doutorado em Engenharia da Produção), Programa de pós-graduação em Engenharia de Produção. UFSC, Florianópolis, SC, 2002.

WALISZEWSKI, K.N *et al.* (2007). Efeito da hidratação e pré-tratamento enzimático de favas de baunilha na cinética de extração de vanilina. **Revista de Engenharia de Alimentos - J FOOD ENG.** [s. l.], V.78, p.1267-1273, fev/2007.

WOLFF, SILVEIRA, LAZZAROTTO. Metodologia para extração de fenólicos totais e antioxidantes da erva-mate. **Revista Científica Cesumar**, [s. l.], v. 21 n. 1, jun/2019.

Zhang, Z., Poojary, MM, Choudhary, A. *et al.* Processamento por ultrassom da casca de prata do café, grãos usados da cervejaria e resíduos de casca de batata para compostos fenólicos e aminoácidos: um estudo comparativo. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. **58**, p. 2273–2282, 2021.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. A determinação dos teores de flavonóides em amoreira e seus efeitos de eliminação de radicais superóxidos. **Revista Química de Alimentos**, [s. l.], v. 64, p. 555-559, 1978.