

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

LAIS BRITO CANGUSSU

**CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS
PRESENTES EM CASCAS DE CAFÉ DA ESPÉCIE *COFFEA*
*ARABICA***

Belo Horizonte

2017

LAIS BRITO CANGUSSU

**CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS
PRESENTES EM CASCAS DE CAFÉ DA ESPÉCIE *COFFEA*
*ARABICA***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Área de Concentração: Química e Bioquímica de Alimentos

Orientador: Dr. Leandro Soares de Oliveira

Belo Horizonte

2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me permitido concluir mais esta etapa na minha vida.

Aos professores Leandro e Adriana, por terem me acolhido no laboratório de biocombustíveis e confiado no meu trabalho.

Aos meus pais, irmãos, namorado, amigos e todos os familiares pelo apoio e compreensão.

Aos colegas do laboratório pela ajuda e companhia durante os experimentos, especialmente a Dani, pela paciência e disposição em ajudar e ensinar.

À CAPES, pela bolsa concedida.

E a todos que acreditaram em mim.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi a caracterização química dos compostos bioativos presentes em cascas de café da espécie arábica, bem como a influência do branqueamento na preservação desses compostos. Foi realizada a quantificação dos compostos fenólicos extraíveis e não extraíveis pelo Ensaio Folin-Ciocalteu, das proantocianidinas extraíveis (EPA) e não extraíveis (NEPA) por método espectrofotométrico e de trigonelina e cafeína por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Também foi realizada a identificação dos compostos fenólicos por CLAE e a avaliação da composição química dos polissacarídeos por cromatografia a gás. Todas as amostras apresentaram alto teor de compostos fenólicos (> 500mg EAG/100g), sendo que o branqueamento contribuiu para preservação de fenólicos não extraíveis, porém, ocasionou perda de fenólicos extraíveis. Os valores de EPA e NEPA encontrados em todas as amostras foram superiores aos valores encontrados na literatura para maçã, pêssego e nectarina. Com os resultados obtidos, pode-se dizer que quantidades significativas de cafeína e trigonelina da fruta de café estão nas cascas e que o branqueamento contribuiu significativamente para perdas desses compostos. Os compostos fenólicos identificados nas amostras foram ácido clorogênico e ácido protocatecuico, sendo que o branqueamento preservou o ácido clorogênico e ocasionou perdas do ácido protocatecuico nas amostras. Os monossacarídeos presentes nas amostras foram semelhantes aos encontrados em borra de café, exceto pela presença de xilose, o que indica a presença de xilanas e xiloglucanas em cascas de café. Com os resultados obtidos, conclui-se que cascas de café apresentam um elevado potencial bioativo, podendo ser utilizadas para diversos fins.

Palavras-chave: Casca de Café. Compostos Bioativos. Compostos Fenólicos.

ABSTRACT

The objective of this work was the chemical characteristics of the bioactive compounds present in coffee husks of the Arabica species, as well as the influence of bleaching on the preservation of these compounds. The quantification of extractable and non-extractable phenolic compounds was carried out by the Folin-Ciocalteu Assay, the extractable proanthocyanidins (EPA) and non-extractable proanthocyanidins (NEPA) by a spectrophotometric method and trigonelin and caffeine by high performance liquid chromatography (HPLC). The identification of the phenolic compounds was also carried out by HPLC and the determination of the monosaccharides composition of the polysaccharides by gas chromatography. All samples presented high contents of phenolic compounds (> 500mg EAG/100 g), and bleaching contributed to the preservation of non-extractable phenolics, but caused the loss of extractable phenolics. The values of EPA and NEPA determined for all samples were higher than the values found in the literature for apple, peach and nectarine. With the results obtained, it can be stated that more than half of the caffeine and trigonelin contents of the coffee fruit are in the husks and that bleaching contributed significantly to the losses of these compounds. The phenolic compounds identified in the samples were chlorogenic acids and protocatechuic acid. Bleaching of the husks preserved fairly the chlorogenic acids and caused losses of the protocatechuic acid in the samples. The monosaccharides present in the samples were similar to those found in spent coffee grounds, except for the presence of xylose, which indicates the presence of xylans and xyloglucans in coffee husks. With the results here in obtained, it is concluded that coffee husks have a significant potential as a source of bioactive compounds and can be thus proposed for use in several applications in the food sector.

Keywords: Coffee Husks. Bioactive Compounds. Phenolic Compounds.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Planta <i>Coffea</i>	22
FIGURA 2 – Planta <i>Coffea</i> na fase de floração.....	22
FIGURA 3 – Camadas do grão de café	23
FIGURA 4 – Fluxograma dos processamentos a seco, semi-úmido e úmido de grãos de café	25
FIGURA 5 – Evolução do consumo de café no Brasil.....	27
FIGURA 6 – Estrutura química da (+) - catequina	32
FIGURA 7 – Estrutura química da epicatequina	33
FIGURA 8 – Estrutura química do ácido caféico.....	33
FIGURA 9 – Estrutura química do ácido protocatecuico.....	34
FIGURA 10 – Estrutura química do ácido clorogênico.....	35
FIGURA 11 – Estrutura química do ácido gálico.....	36
FIGURA 12 – Estrutura química do ácido elágico.....	36
FIGURA 13 – Métodos de obtenção de fenólicos extraíveis e não extraíveis e proantocianidinas extraíveis e não extraíveis.....	37
FIGURA 14 – Estrutura química da cafeína.....	38

FIGURA 15 – Estrutura química da trigonelina	40
FIGURA 16 – Estrutura parcial de galactomananas	42
FIGURA 17 – Estrutura da arabino-4-galactana	42
FIGURA 18 – Estrutura da xilana	43
FIGURA 19 – Estrutura da xiloglucana	43
FIGURA 20 – Cascas de café secas com pequenas quantidades de pergaminho (CS1)	46
FIGURA 21 – Cascas de café secas com pequenas quantidades de pele exterior e polpa (CS2)	47
FIGURA 22 – Amostras de cascas de café (branqueadas e não branqueadas) limpas, secas e transformadas em pó	48
FIGUEA 23 – Extratos obtidos das amostras CS1 e CS1b, respectivamente, para quantificação de fenólicos extraíveis	49
FIGURA 24 – Extratos obtidos das amostras CS2 e CS2b, respectivamente, para quantificação de fenólicos extraíveis	50
FIGURA 25 – Extratos de proantocianidinas extraíveis das amostras CS1, CS1b, CS2 e CS2b, respectivamente	52
FIGURA 26 – Extratos de proantocianidinas não extraíveis das amostras CS1, CS1b, CS2 e CS2b, respectivamente	53

FIGURA 27 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS1	67
FIGURA 28 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS1b	67
FIGURA 29 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS2	68
FIGURA 30 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS2b	68
FIGURA 31 – Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS1	69
FIGURA 32 – Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS1b	70
FIGURA 33 – Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS2	70
FIGURA 34 – Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CSb	71
FIGURA 35 – Monossacarídeos presentes na amostras CS1 (1-Ramnose, 2- Arabinose, 3- Xilose, 4- Alose-padrão interno, 5- Manose, 6- Galactose, 7- Glicose, 8- Mio-Inositol)	73
FIGURA 36 – Monossacarídeos presentes na amostras CS1b (1-Ramnose, 2- Arabinose, 3- Xilose, 4- Alose-padrão interno, 5- Manose, 6- Galactose, 7- Glicose, 8- Mio-Inositol)	73

FIGURA 37 – Monossacarídeos presentes na amostras CS2 (1-Ramnose, 2- Arabinose, 3- Xilose, 4- Alose-padrão interno, 5- Manose, 6- Galactose, 7- Glicose, 8- Mio-Inositol)	74
FIGURA 38 – Monossacarídeos presentes na amostras CS2b (1-Ramnose, 2- Arabinose, 3- Xilose, 4- Alose-padrão interno, 5- Manose, 6- Galactose, 7- Glicose, 8- Mio-Inositol).....	74
FIGURA 39 – Diagrama de pareto dos efeitos padronizados de tratamentos para extração de trigonelina com 2 fatores	77
FIGURA 40 – Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS1	78
FIGURA 41 – Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS1b	78
FIGURA 42 – Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS2	79
FIGURA 43 – Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS2b	79
FIGURA 44 – Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS1	81
FIGURA 45 – Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS1b	81
FIGURA 46 – Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS2	82
FIGURA 47 – Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS2b	82

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Composição química dos grãos de café cru das espécies <i>C. arabica</i> e <i>C.canephora</i>	21
TABELA 2 – Nutrientes presentes em casca de café.....	29
TABELA 3 – Composição de casca de café.....	29
TABELA 4 – Possíveis dificuldades nos métodos de cromatografia a gás e cromatografia líquida de alta eficiência.	45
TABELA 5 – Codificação e descrição das amostras.	48
TABELA 6 – Programação de gradiente de concentração de fase móvel para análise de compostos fenólicos por CLAE.	55
TABELA 7 – Tratamentos realizados para montagem do delineamento experimental para otimização da extração de trigonelina em casca de café.....	59
TABELA 8 – Teores de compostos fenólicos extraíveis e não extraíveis de cascas de café.	62
TABELA 9 – Teores de proantocianidinas extraíveis e não extraíveis em cascas de café	65
TABELA 10 – Quantidade de ácido clorogênico e ácido protocatecuico em amostras de cascas de café	66
TABELA 11 – Porcentagens molares relativas de monossacarídeos em cascas de café.	72

TABELA 12 – Quantidade de trigonelina em casca de café para diversos tratamentos de extração.....76

TABELA 13 – Quantidade de cafeína em amostras de casca de café.....77

TABELA 14 – Quantidade de trigonelina em amostras de casca de café.81

LISTA DE SIGLAS

ABIC Associação Brasileira de Indústria de Café

ACG Ácidos clorogênicos

AGP Arabinogalactanas-Proteína

ANOVA Análise de variância

APC Ácido protocatecuico

CG Cromatografia Gasosa

CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CS1 Casca de café seca composta por pele exterior e polpa (80 %) e pergaminho (20%)

CS2 Casca de café seca composta por pele exterior e polpa (28 %) e pergaminho (72%)

DCM Diclorometano

EAG Equivalente de ácido gálico

EPA Proantocianidinas extraíveis

FE Fenólicos extraíveis

FNE Fenólicos não extraíveis

ICO International Coffee Organization

LDL Lipoproteína de baixa densidade

NEPA Proantocianidinas não extraíveis

PA Proantocianidinas

RMR Razão molar relativa

RPM Rotação por minuto

SINDICAFÉ – MG Sindicato da Indústria de Café do Estado de Minas Gerais

TFA Ácido trifluoracético

TOC Transtorno Obsessivo Compulsivo

UASB Upflow Anaerobic Sludge Blanket

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 CAFÉ	21
2.1.1 Produção Mundial do Café	25
2.1.2 Cascas de Café	27
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS	30
2.2.1 Compostos Fenólicos	31
2.2.2 Cafeína	38
2.2.3 Trigonelina	40
2.2.4 Polissacarídeos.....	41
2.3 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	44
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 MATÉRIA-PRIMA.....	46
3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS	47
3.3 MÉTODOS	49
3.3.1 Quantificação de compostos fenólicos extraíveis	49
3.3.2 Quantificação de taninos hidrolisáveis.....	50
3.3.3 Ensaio Folin-Ciocalteu	51
3.3.4 Quantificação de Proantocianidinas Totais.....	51
3.3.5 Preparo de vidrarias para as análises cromatográficas	53
3.3.6 Identificação e quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência	54

3.3.7 Avaliação da composição química dos polissacarídeos por cromatografia a gás	56
3.3.8 Otimização da extração de trigonelina.....	58
3.3.9 Quantificação de cafeína e trigonelina por cromatografia líquida de alta eficiência.....	60
3.4 Análises Estatísticas	61
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	62
4.2 PROANTOCIANIDINAS TOTAIS	64
4.3 COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	66
4.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS POR CROMATOGRAFIA A GÁS	72
4.5 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE TRIGONELINA.....	76
4.6 CAFEÍNA E TRIGONELINA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	77
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	84
REFERÊNCIAS.....	86
APÊNDICES.....	96

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O café é o segundo produto comercial mais importante do mundo, depois do petróleo, e é consumido por cerca de um terço da população mundial (PONTE, 2002; VERBIST *et al.*, 2005). Os principais produtores de café no mundo são Brasil, seguido por Vietnã, Colômbia, Indonésia, Etiópia e Índia. Em 2016, a produção de café no Brasil foi de 3.300.000 toneladas, seguido do Vietnã com 1.530.00 toneladas (ICO, 2017).

A planta *Coffea* produz flores brancas, que se desenvolvem em frutas de formato oval. Cada fruta consiste em polpa, mucilagem, exocarpo e geralmente duas sementes centrais. Os frutos imaturos são verdes, mas quando amadurecem ficam vermelhos ou amarelos. Apenas as sementes da fruta são utilizadas para produzir a bebida conhecida como café (SMITH, 1987). Atualmente, são cultivadas duas espécies comerciais em nível mundial: *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. A *Coffea arabica* é a espécie de café mais antiga que se conhece, sendo considerada a espécie de maior valor comercial. É responsável por 75 a 80 % da produção mundial e é a espécie mais cultivada no Brasil (BELITZ *et al.*, 2009).

Muitos nutrientes benéficos do café são removidos durante o processamento do grão ou destruídos na torrefação. O processamento do grão de café pode ser feito por três maneiras diferentes: a seco, semi-úmido e úmido (HEIMBACH *et al.*, 2010; RATTAN *et al.*, 2015). O processamento a seco é a técnica mais simples e comum de beneficiamento de frutos de café, e que representa quase 90 % da forma como os grãos colhidos são beneficiados (SAENGER *et al.*, 2001). O principal subproduto do processamento a seco é composto por casca, polpa e pergaminho, todos juntos em uma única fração, denominado cascas de café, sendo que, para cada quilograma de grãos de café produzido, é gerado, aproximadamente, um quilograma de cascas no processamento a seco (FRANCA; OLIVEIRA, 2009).

Devido ao elevado consumo de café, quantidades significativas de resíduos são gerados, sendo estes tóxicos e apresentando efeitos ambientais negativos. É possível obter a partir dos resíduos de café: pectina bruta, açúcares, compostos antioxidantes, flavonóides e alguns corantes naturais (PRATA; OLIVEIRA, 2007; RATTAN *et al.*, 2015). Do ponto de vista industrial, a extração

destes materiais poderia reduzir significativamente os problemas de poluição com as águas residuais (MUSSATO *et al.*, 2011; RATTAN *et al.*, 2015).

A utilização em grande escala dos resíduos de café em todo o mundo é um desafio devido à cafeína, fenóis livres e taninos (polifenóis), que são conhecidos por serem tóxicos para muitos processos vitais (FAN *et al.*, 2003). Muitos esforços têm sido feitos pelos pesquisadores para desenvolver métodos para a utilização de resíduos de café como matéria-prima para a produção de alimentos, bebidas, vinagre, biogás, cafeína, pectina, enzimas pécnicas, proteínas e compostagem (RATTAN *et al.*, 2015).

É de grande importância que a produção de café seja realizada com destinação adequada dos resíduos resultantes a fim de contribuir para sistemas de produção e consumo mais sustentáveis (MURTHY; NAIDU, 2012). Aplicações no campo de gestão de resíduos industriais promovem o desenvolvimento sustentável da economia do país. Pré-tratamentos de resíduos, com agentes físicos e biológicos seguido de recuperação, proporcionam antioxidantes naturais de valor agregado, agentes antimicrobianos, vitaminas e macromoléculas (enzimas, celulose, amido, lipídeos, proteínas e pigmentos), que são de grande interesse para indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética (AKKARACHIYASIT *et al.*, 2010; MUSSATO *et al.*, 2011).

A indústria de café gera grande quantidade de subprodutos, os quais são ricos em compostos bioativos, como polifenóis, largamente distribuídos como metabólitos secundários nas plantas e, por conseguinte, fazem parte da dieta humana (MURTHY; MADHAVA, 2010; PÉREZ-JIMÉNEZ; TORRES, 2011). Os compostos fenólicos e flavonóides têm atraído recentemente um grande interesse, pois são potentes antioxidantes e exibem várias atividades fisiológicas como anti-inflamatórios, antimicrobianos, antialérgicos, anticancerígenos e anti-hipertensivos (AKKARACHIYASIT *et al.*, 2010).

Antioxidantes são compostos que inibem ou atrasam a oxidação de um substrato oxidável. O sistema de defesa antioxidante é formado por compostos enzimáticos e não enzimáticos, podendo ser encontrados dentro das células, na circulação sanguínea ou nos alimentos. É importante consumir alimentos que contêm substâncias antioxidantes diariamente, pois estes compostos protegem o

organismo do efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva (MOREIRA; SHAMI, 2004; DEGASPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Os principais compostos fenólicos do café são os ácidos hidroxicinâmicos (ácido cafeíco, ácido clorogênico e ácido ferúlico) (RISSO *et al.*, 2007), sendo que as cascas de café apresentam composição similar, com o ácido clorogênico, representando 42 % do total de fenólicos presentes (PANDEY *et al.*, 2000).

Os polifenóis naturais podem abranger desde moléculas simples, como os ácidos fenólicos, até compostos altamente polimerizados, como os taninos. Estes ocorrem primariamente sob forma conjugada, com um ou mais resíduos de carboidratos ligados a grupos hidroxila, embora ligações diretas na unidade do carboidrato com um átomo de carbono aromático também existam (BRAVO, 1998).

Até recentemente, a maioria dos estudos sobre compostos fenólicos de origem vegetal se referiam apenas aos fenólicos extraíveis (FE) e não consideravam a fração fenólica não extraível (FNE) e, portanto, foram muitas vezes desconsiderados pela literatura (SAURA-CALIXTO, 2012). A FNE dispõe de compostos fenólicos que são vinculados ou aprisionados na matriz da planta e, conseqüentemente, permanecem no resíduo após a extração com solventes aquoso-orgânicos (WHITE *et al.*, 2010).

De acordo com Albishi *et al.* (2013), as frações fenólicas não extraíveis dos resíduos agrícolas apresentam maiores quantidades de compostos fenólicos que as frações fenólicas extraíveis. Explorando essa fração, portanto, resulta em uma melhor valorização dos fluxos de resíduos. No entanto, as diferenças das frações fenólicas extraíveis e não extraíveis ainda não foram profundamente estudadas (GONZALES *et al.*, 2015).

As metilxantinas também são compostos que exercem ação biológica essencial no nosso metabolismo. A cafeína faz parte desse grupo. Segundo Shi *et al.* (2005), a cafeína apresenta elevada capacidade antioxidante com efeito semelhante ao da glutatona e superior à do ácido ascórbico. O café é o alimento que mais contribui para a ingestão da cafeína devido ao respectivo elevado consumo mundialmente.

Outro composto com elevada capacidade biológica é a trigonelina, uma N-metil betaína, que é um dos principais componentes do café cru (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015). Em contraste com a cafeína, a trigonelina é amplamente distribuída no reino vegetal e dentre suas atividades biológicas, pode-se destacar ação anticancerígena e contra cárie dentária (ASHIHARA, 2015).

Durante vários anos, os efeitos fisiológicos do café têm sido focados no respectivo teor de cafeína, ignorando outros componentes bioativos presentes no café, como os polissacarídeos. Os polissacarídeos são fontes de fibra alimentar e apresentam propriedades imunoestimuladoras (PETKOWICZ, 2015). Estes são os componentes presentes no grão de café em maior quantidade (MONTEIRO; TRUGO, 2005).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido a técnica mais empregada na análise de compostos bioativos presentes em diversos vegetais: compostos fenólicos em erva-mate (DUTRA *et al.*, 2010); cafeína, trigonelina e compostos fenólicos em café torrado (MORAIS *et al.*, 2009; MONTEIRO; TRUGO, 2005); compostos fenólicos em repolho vermelho e couve de Bruxelas (GONZALES *et al.*, 2015); compostos fenólicos em batata (NAVARRE *et al.*, 2011); dentre outros.

Levando-se em consideração a falta de estudos sobre as frações fenólicas não extraíveis, propõe-se estudar a diferença entre os FEs e FNEs de cascas de café branqueadas e não branqueadas e a caracterização química dos respectivos compostos bioativos, uma vez que, é gerada uma grande quantidade de resíduos de cascas de café, que apresentam alto potencial bioativo e que são atualmente subutilizados.

Os objetivos específicos do trabalho que caracterizam as principais etapas do seu desenvolvimento são:

- a. determinar o teor das frações fenólicas extraíveis e não extraíveis presentes em cascas de café;
- b. determinar o teor de proantocianidinas extraíveis e não extraíveis presentes em cascas de café;
- c. identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes em cascas de café;

- d. quantificar cafeína e trigonelina em cascas de café; e
- e. avaliar a composição monossacarídica dos polissacarídeos presentes em cascas de café.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CAFÉ

O café se origina da árvore do gênero *Coffea* da família *Rubiaceae*. O sub-gênero *Coffea* contém mais de 80 espécies, sendo que as espécies mais comercializadas são *Coffea arabica* (Café Arábica) e *Coffea canephora* (Café Robusta). Cada espécie apresenta composição química diferente, resultando na produção de bebidas com características sensoriais diferenciadas (MONTEIRO; TRUGO, 2005; MURTHY; NAIDU, 2012). Na Tabela 1, apresenta-se a composição química dos grãos de café crus das espécies *C. arabica* e *C. canephora*.

Tabela 1 – Composição química dos grãos de café cru das espécies *C. arabica* e *C. canephora*.

Componentes	Café Arábica (g/100 g em base seca)	Café Robusta (g/100 g em base seca)
Cafeína	1,2	2,2
Trigonelina	1,0	0,7
Cinzas	4,2	4,4
Ácido Clorogênico Total	6,5	10,0
Ácidos Alifáticos	1,0	1,0
Ácido Quínico	0,4	0,4
Sacarose	8,0	4,0
Açúcares Redutores	0,1	0,4
Polissacarídeos	44,0	48,0
Lignina	3,0	3,0
Pectina	2,0	2,0
Proteína	11,0	11,0
Aminoácidos livres	0,5	0,8
Lípídeos	16,0	10,0

Fonte: Clarke(2003).

Acredita-se que a planta *Coffea* (Figura 1), um arbusto verde com folhas brilhantes, tem origem no sul da Ásia ou na África. Atualmente, é cultivada como cultura agrícola em várias partes no mundo (HEIMBACH *et al.*, 2010). É uma planta

de dias curtos e, portanto, a iniciação floral (Figura 2) ocorre em condição de dias curtos de 8-11 horas de luz por dia. O processo de fertilização é concluído dentro de 24-48 horas após a polinização e a germinação ocorre em cerca de 45 dias (MURTHY; NAIDU, 2012). A fruta normalmente atinge maturidade em 7-9 meses (HEIMBACH *et al.*, 2010).



Figura 1 – Planta *Coffea*.

Fonte: MURTHY & NAIDU (2012)



Figura 2 – Planta *Coffea* na fase de floração.

Fonte: MURTHY & NAIDU (2012)

Os cafeeiros crescem em regiões tropicais, entre o Trópico de Câncer e o Trópico de Capricórnio, que têm chuvas abundantes durante todo o ano com temperatura média de 21 °C e sem geada. Crescem em altitudes que variam do nível do mar até 1.981,2 metros. Os cafeeiros demoram aproximadamente cinco anos para terem a sua primeira safra, sendo que serão produtivos durante cerca de quinze anos (MURTHY; NAIDU, 2012).

O fruto do cafeeiro, conhecido como baga ou cereja, é constituído por uma pele exterior lisa e resistente (pericarpo - casca) de coloração verde em frutos imaturos e vermelho-violeta ou vermelho escuro quando maduro (amarelo ou laranja em genótipos particulares). O pericarpo cobre a fração amarelada e fibrosa, conhecida como polpa ou mesocarpo externo. A próxima camada é a mucilagem, uma camada fina, translúcida, incolor, viscosa e altamente hidratada de pectina. Então, existe um endocarpo fino de cor amarelada, também, denominado de pergaminho. Por último, existe uma película prateada que cobre cada hemisfério do grão de café (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). Na Figura 3, está representado o grão de café.

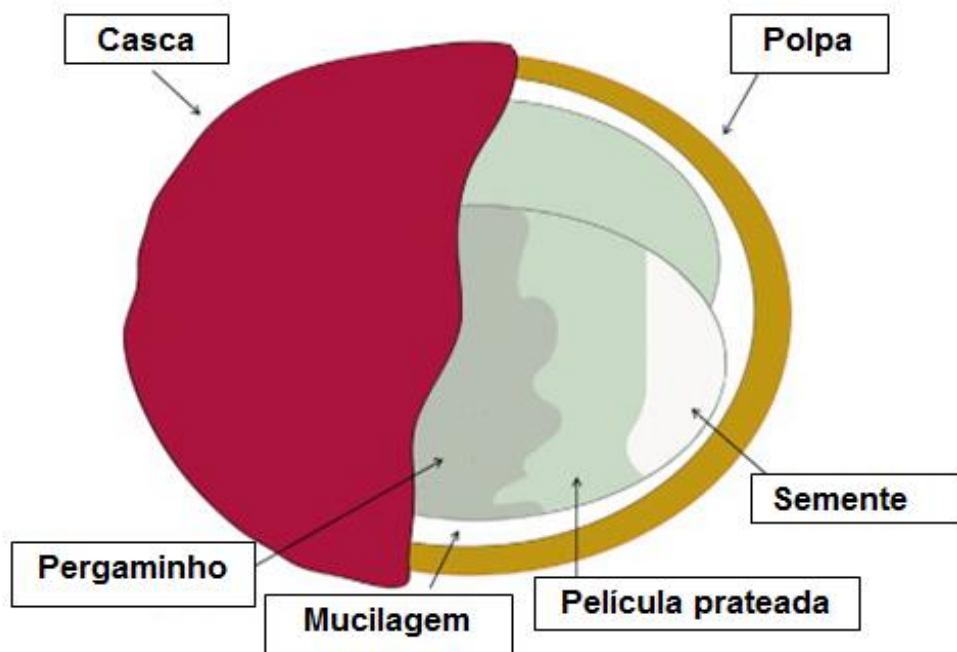


Figura 3 – Camadas do grão de café.

Fonte: ESQUIVEL & JIMÉNEZ (2012)

O processamento do grão de café pode ser feito por três maneiras diferentes: a seco, semi-úmido e úmido. No processo úmido ou molhado, a polpa da fruta que cobre as sementes de café é removida por despulpador antes de serem secos. Em seguida, tem a etapa de fermentação com o objetivo de desprender a mucilagem do pergaminho, que demora cerca de 24 a 72 horas, dependendo da concentração de enzimas pectinolíticas, da temperatura ambiente e da espécie do grão. A temperatura ideal para a fermentação é de 30-35 °C e as massas de café devem ser agitadas 2 ou 3 vezes. Após a fermentação, é realizada a lavagem para retirada completa da mucilagem. Depois da lavagem, a semente é imersa em água limpa durante 12 horas, o que resulta em uma melhora da aparência visual e da qualidade dos grãos por meio da remoção de diterpenos e substâncias polifenólicas. Os grãos lavados são drenados e destinados a etapa de secagem. Estes são distribuídos em camadas com espessuras de 5 cm e agitados com frequência para garantir secagem uniforme. Radiações solares fortes são evitadas no 3º e 4º dia de secagem durante o meio-dia. A secagem encerra quando os grãos atingem umidade de aproximadamente 10 % (MURTHY; NAIDU, 2012).

No método semi-úmido, os frutos são despulpados e a mucilagem também é retirada. No entanto, a mucilagem é retirada por método mecânico e não por fermentação e logo em seguida os grãos são destinados à secagem, não passando pela etapa de lavagem. No método seco, os frutos colhidos são espalhados uniformemente com espessura de cerca de 8 cm em terreiro limpo. Eles são agitados uma vez a cada hora. As cerejas são consideradas secas quando um punhado de café produz um som de chocalho quando agitados. Os grãos de café normalmente ficam totalmente secos em 12-15 dias em condições meteorológicas boas. Os grãos secos não são expostos à etapa de lavagem para evitar que ocorra formação de mofo, podendo afetar negativamente a qualidade do café. A secagem adequada contribui para um café de qualidade boa em relação à cor, forma e constituintes aromáticos (MURTHY; NAIDU, 2012; RATTAN *et al.*, 2015). As etapas de cada método do processamento de café em grão e os resíduos gerados em cada etapa estão representadas na Figura 4.

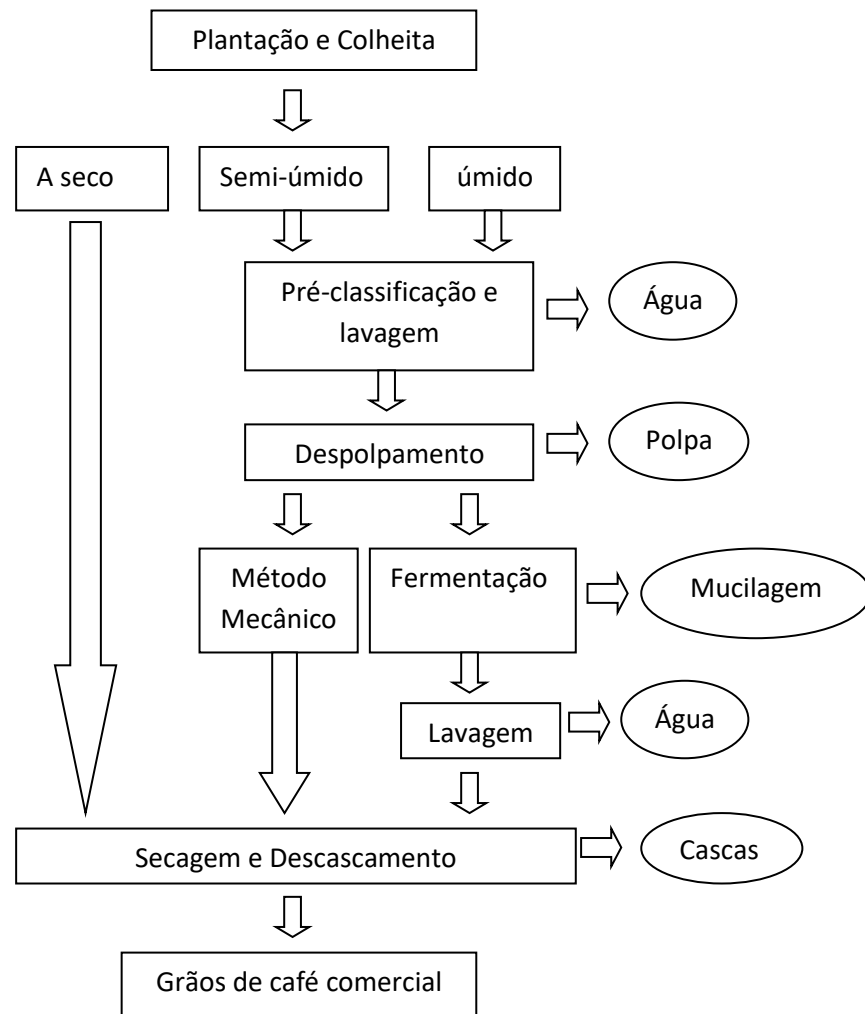


Figura 4 – Fluxograma dos processamentos a seco, semi-úmido e úmido de grãos de café.

Fonte: RATTAN *et al.* (2015)

2.1.1 Produção Mundial do Café

O café representa uma das bebidas mais consumidas, sendo as espécies *Coffea arabica* (Arábica) e *Coffea canephora* (Robusta) as mais importantes mundialmente, representando cerca de 75 e 24 % da produção global, respectivamente. A espécie *Coffea arabica* é considerada superior devido às respectivas propriedades sensoriais, sendo responsável pelos maiores preços no mercado internacional (TOSCHI *et al.*, 2014; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). O processamento a seco é a técnica mais simples e comum de beneficiamento de

frutos de café e representa quase 90 % da forma como os grãos colhidos são beneficiados (SAENGER *et al.*, 2001).

Globalmente, 25 milhões de pequenos produtores dependem do café para o seu sustento e mais de 90 % da produção de café ocorre nos países em desenvolvimento, enquanto que o consumo é principalmente nas economias industrializadas (PONTE, 2002). Portanto, o café é muito importante para a economia dos países em desenvolvimento e para pequenos produtores que, muitas vezes, dependem apenas dessa renda.

O café é cultivado em cerca de 80 países e é uma das bebidas mais populares do mundo e a segunda maior commodity comercializada, depois do petróleo. A produção de café cru global aumentou quase 17 % entre 2000 e 2012, provavelmente devido ao aumento do rendimento na produção agrícola (24 %) (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015). De acordo com o International Coffee Organization (ICO, 2017), a produção global de café em 2016 foi de 151.624.000 sacas de 60 kg, sendo que o maior produtor foi o Brasil com 55.000.000 sacas de 60 kg. Segundo Ponte (2002), Brasil, Vietnã e Colômbia são responsáveis por mais da metade da produção mundial.

O Brasil é o maior produtor e exportador de café do mundo e é o segundo maior consumidor (FRANCA; OLIVEIRA, 2009). A espécie *C. arabica* ocupa 74 % do parque cafeeiro do Brasil, enquanto que a *C. canephora* ocupa 26 % (MONTEIRO; TRUGO, 2005). De acordo com a Associação Brasileira de Indústria de Café (ABIC, 2015), o consumo per capita de café cru e torrado no Brasil em 2014 foi de 6,12 e 4,89 kg por habitante, respectivamente. No ano de 2014, o consumo de café no Brasil teve um aumento de 1,24 % em relação ao ano de 2013. Na Figura 5, mostra-se a evolução do consumo interno de café no Brasil.

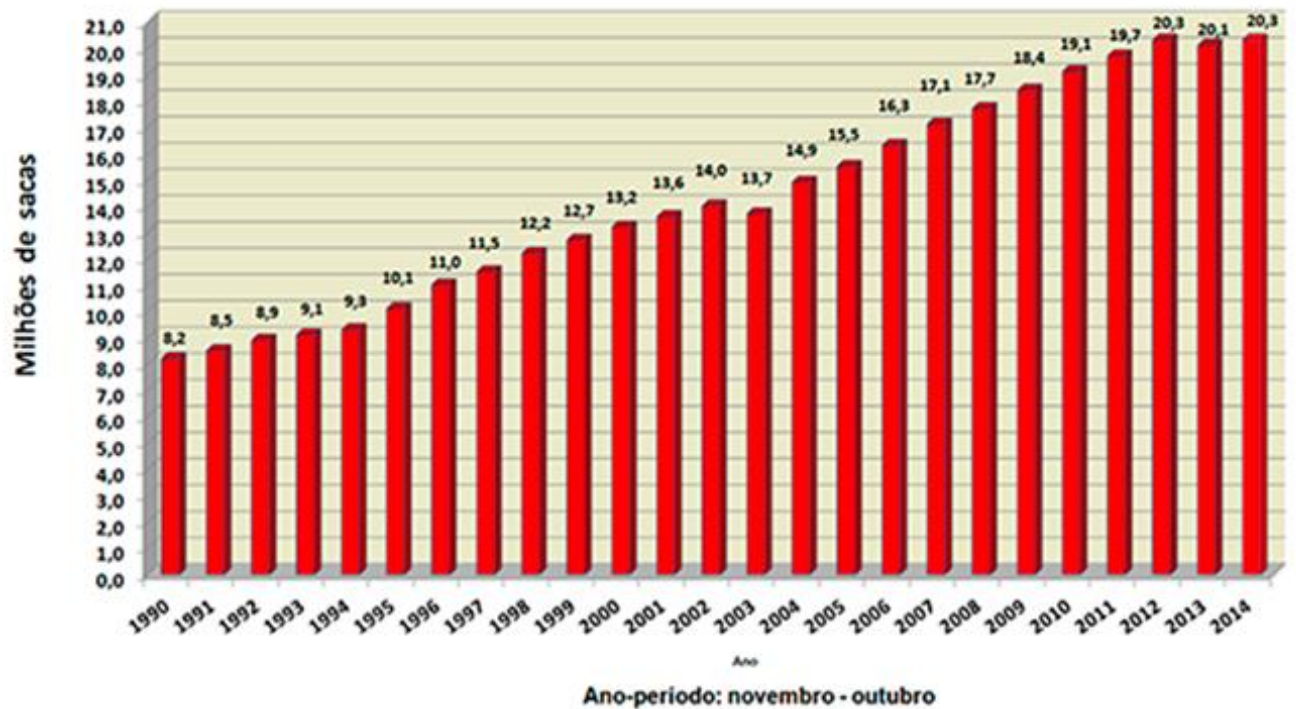


Figura 5 – Evolução do consumo de café no Brasil.

Fonte: ABIC (2015)

2.1.2 Cascas de Café

Considerando-se que mais de 50 % do fruto de café é descartado, a produção de café leva a uma quantidade elevada de resíduos, tais como cascas de café, das quais apenas um ligeiro percentual é reutilizado. Portanto, o isolamento e a valorização dos compostos bioativos dos resíduos industriais de café poderia ser uma possibilidade de evitar o seu desperdício (TOSCHI *et al.*, 2014). A utilização dos resíduos agrícolas é atraente, pois são abundantes e apresentam valor econômico baixo, além de seu uso evitar a concorrência direta e indireta com a alimentação humana e animal (BONILLA-HERMOSA *et al.*, 2014).

Resíduos da indústria de café representam um sério problema ambiental para os países produtores, devido ao descarte indevido, causando poluição da água e da terra (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). A presença de alguns compostos químicos tóxicos nos resíduos de café (alcalóides, taninos e polifenóis) faz com que a degradação biológica de matéria orgânica nas águas residuais seja mais difícil (MURTHY *et al.*, 2004).

O principal efeito ecológico da poluição orgânica em um curso de água é a diminuição do teor de oxigênio. As substâncias orgânicas diluídas nas águas residuárias são degradadas muito lentamente por processos microbiológicos, utilizando-se o oxigênio da água. Devido à diminuição do teor de oxigênio dissolvido em água, a procura de oxigênio para degradar o material orgânico no efluente excede o fornecimento, criando assim condições anaeróbias. O resultado das condições anaeróbias pode ser fatal para criaturas aquáticas e também causar mal odor. Além disso, as bactérias causam problemas à saúde se as águas residuais infiltram em uma fonte de água potável (MURTHY *et al.*, 2004).

Em Papua Nova Guiné, um reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) foi utilizado para o tratamento de águas residuais de café, juntamente com um sistema de filtro biológico. Apesar disso, os flavonóides das cascas de café continuaram a colorir os rios e outras áreas de descarga (CALVERT, 1997). O uso direto dos subprodutos de café para a alimentação animal não foi possível devido aos fatores antinutricionais e antifisiológicos (por exemplo, taninos e cafeína) presentes nestes. No entanto, cascas de café e polpa podem ser uma fonte de fitoquímicos para as indústrias alimentícias e farmacêuticas (MURTHY; NAIDU, 2012).

A casca e a polpa de café, compreendendo cerca de 45 % do fruto, são os principais produtos secundários do café agro-industrial e podem ser materiais valiosos para vários fins, incluindo cafeína e polifenóis (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015). As cascas de café contêm mais de 9 % de compostos fenólicos, e, como tal, a liberação direta destes no ambiente poderia inibir o crescimento de raízes e plantas e levar a um aumento das emissões de gases com efeito estufa por meio de decomposição aneróbica (SHEMEKITE *et al.*, 2014). Desta maneira, é de grande importância que as cascas de café sejam reaproveitadas, evitando efeitos ambientais negativos.

As cascas de café são compostas pela pele exterior, a polpa e o pergaminho, principalmente resultante do processamento a seco do café. As cascas de café contêm 24,5 % de celulose, 29,7 % de hemicelulose, 23,7 % de lignina e 6,2 % de cinzas (BEKALO; REINHARDT, 2010). De acordo com Franca & Oliveira (2009), cascas de café resultantes do processamento a seco do grão representam

cerca de 5 g/100 g de base seca de taninos e cerca de 1 g/100 g de cafeína. Nas Tabelas 2 e 3, é apresentada a composição de cascas de café de acordo com Brand *et al.* (2001) e Gouvea *et al.* (2009), respectivamente.

Tabela 2 – Nutrientes presentes em casca de café.

Nutrientes	Composição
Hidratos de carbono	35 %
Proteínas	5,2 %
Fibras	30,8 %
Minerais	10,7 %

Fonte: Brand *et al.* (2001)

Tabela 3 – Composição de casca de café.

Nutrientes	Composição
Umidade	15 %
Cinzas	5,4 %
Proteína	7,0 %
Lipídeos	0,3 %
Hidratos de Carbono	72,3 %

Fonte: Gouvea *et al.* (2009)

As composições das cascas de café citadas tiveram valores bem distintos, o que pode ser explicado pela possível diferença de safra, tempo de colheita, região, porcentagem de pergaminho e polpa presentes, dentre outros diversos fatores. Os teores elevados de hidratos de carbono são esperados, levando em consideração a origem de tais resíduos sólidos, isto é, polpa de frutas e pele exterior (FRANCA; OLIVEIRA, 2009).

O pergaminho do café é composto por (α -) celulose (40-49 %), hemicelulose (25-32 %), lignina (33-35 %) e cinzas (0,5-1 %) (BEKALO; REINHARDT, 2010). De acordo com Esquivel & Jiménez (2012), não existe nenhum estudo sobre as características funcionais do pergaminho do café, desta forma, é interessante analisar as diferenças entre cascas de café com diversas proporções de pergaminho.

Diversos estudos mostraram possíveis aplicações para cascas de café: antocianinas (PRATA; OLIVEIRA, 2007), ácido cítrico (SHANKARANAD; LONSANE, 1999), tanase (BATTESTIN; MACEDO, 2007), biosorventes (OLIVEIRA *et al.*, 2008), dentre outros.

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Além de nutrientes essenciais para a vida, os alimentos também apresentam compostos bioativos, que promovem benefícios à saúde e reduzem o risco de desenvolvimento de doenças. Vitaminas e compostos fenólicos, por exemplo, apresentam atividade antioxidante, antiinflamatória e hipocolesterolêmica (SEIFRIED *et al.*, 2007).

O sistema de defesa antioxidante é formado por compostos enzimáticos e não-enzimáticos, presentes tanto no organismo (localizado dentro das células ou na circulação sanguínea) como nos alimentos ingeridos (MOREIRA; SHAMI, 2004). Os compostos de natureza antioxidante, naturalmente presentes nos alimentos e subprodutos, têm despertado interesse devido aos efeitos benéficos na saúde e bem-estar, atuando ainda na prevenção de doenças.

Antioxidantes são compostos que protegem o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva (KRINSKY, 1994). O consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária pode produzir uma ação protetora efetiva contra esses processos oxidativos que ocorrem no organismo. Foi descoberto que várias doenças, como câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, AIDS e doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas. Essas substâncias também estão ligadas a processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo (DEGASPARI; WASZCZYNSKY, 2004).

Os antioxidantes têm se apresentado como uma maneira alternativa de prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e, também, minimizar os danos oxidativos nos seres vivos. Devido ao fato do emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos estar sendo alvo frequente de questionamentos quanto à inocuidade, havendo a possibilidade desses antioxidantes apresentarem alguma

toxidez, várias pesquisas têm sido desenvolvidas de modo a buscar compostos naturais que também apresentam esta propriedade funcional (DELL RÉ; JORGE, 2012).

Os principais antioxidantes que podem ser encontrados nos vegetais são os carotenóides, vitamina E, compostos fenólicos e vitamina C. Esses antioxidantes absorvem ou doam radicais livres e inibem o início da reação em cadeia ou interrompem a propagação de reações em cadeia das reações oxidativas promovidas pelos radicais (PODSEDEK, 2007).

2.2.1 Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos compreendem um grupo diverso de compostos bioativos encontrados na natureza. São largamente distribuídos como metabólitos secundários em plantas, e, portanto, fazem parte da dieta humana. Atualmente, cerca de 10.000 compostos fenólicos têm sido descritos na literatura e, por serem altamente antioxidantes, tem surgido grande interesse em estudá-los (GONZALES *et al.*, 2015).

Os compostos fenólicos são largamente distribuídos em frutos, legumes, grãos, sementes, folhas, raízes, cascas, dentre outros materiais. Eles são capazes de retardar o envelhecimento e o aparecimento de doenças, e até impedi-las (SAAKSJARVI *et al.*, 2007). Funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SHAHIDI, 1996). São conhecidos por serem potenciais sequestradores de superóxido e por evitar a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (VASILESCU *et al.*, 2015). Sabe-se que, além de desempenharem funções de proteção, em decorrência da propriedade antioxidante, também contribuem para qualidades sensoriais de vegetais como cor e adstringência (SAAKSJARVI *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos apresentam diversas aplicações industriais, podendo ser usados na produção de tintas, papéis e cosméticos e como corantes naturais e conservantes de alimentos. Apresentam também possíveis implicações

benéficas na saúde humana, podendo prevenir e auxiliar no tratamento de câncer, doenças cardiovasculares e outras patologias (WOLLGAST; ANKLAM, 2000).

Os fenólicos apresentam, em sua estrutura, pelo menos um anel aromático e, como substituintes, hidroxilas acopladas à estrutura do anel (SROKA; CISOWSKI, 2003). De acordo com Soares (2002), estão divididos em dois grandes grupos: os flavonóides e seus derivados e os não-flavonóides (ácidos fenólicos e fenóis simples).

Os flavonóides constituem o grupo de polifenóis mais abundante na natureza (PODSEDEK, 2007). Estão amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais, em geral podem apresentar-se sob muitas variações, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanas, antocianinas, isoflavonas e chalconas. As principais fontes desses fenólicos são: café, cebola, maçã, uva, cerveja, vinho tinto e chá (SILVA *et al.*, 2010). As principais atividades biológicas atribuídas a estes compostos são: atividade antioxidante, efeito protetor de capilares e efeitos inibitórios de tumores em vários estágios (PODSEDEK, 2007). Nas Figuras 6 e 7, estão representadas a estrutura química de alguns flavonóis.

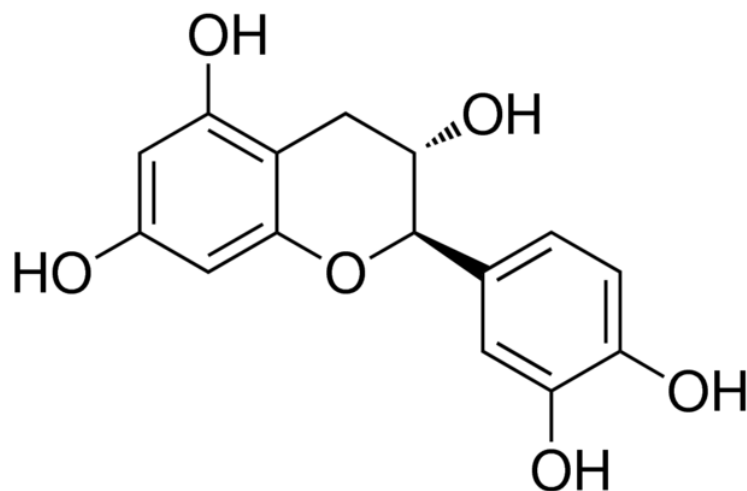


Figura 6 – Estrutura química da (+) – catequina.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

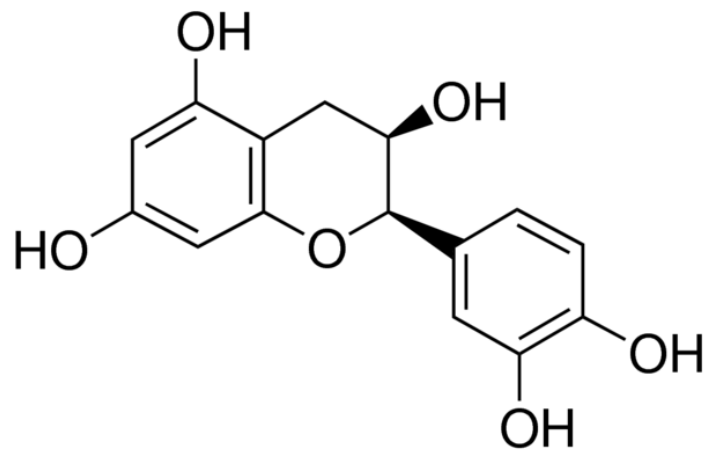


Figura 7 – Estrutura química da epicatequina.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

Pertencem aos não-flavonóides, os derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico. A atividade antioxidante destes está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas. Além disso, quanto maior a proximidade do grupo carboxila do grupo fenila, maior será a capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta. Os ésteres dos ácidos caféico, cumárico e ferúlico são os principais fenólicos não-flavonóides derivados dos ácidos hidroxicinâmicos (SILVA *et al.*, 2010). Nas Figuras 8 e 9, estão representadas a estrutura química de um ácido hidroxicinâmico e um ácido hidroxibenzóico, respectivamente.

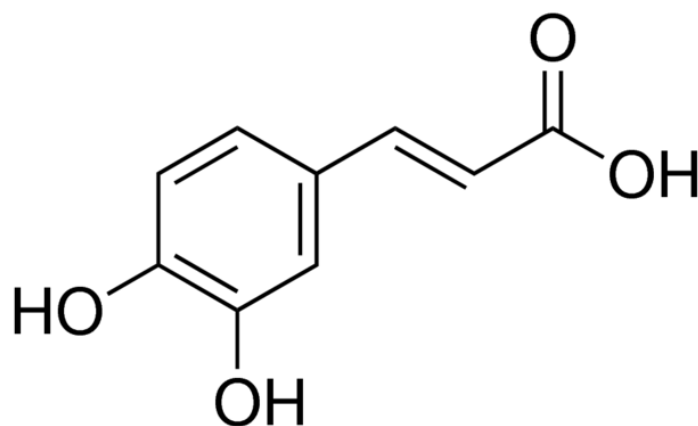


Figura 8 – Estrutura química do ácido caféico.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

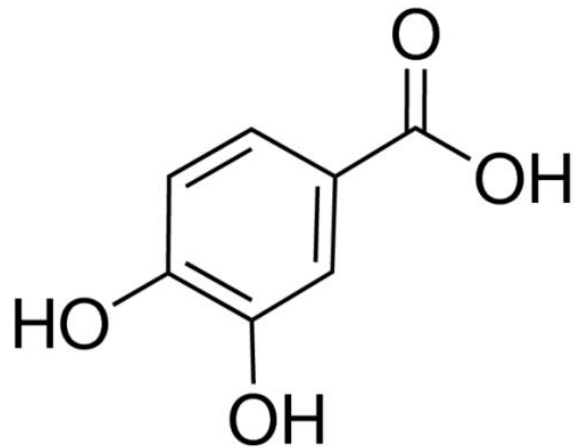


Figura 9 – Estrutura química do ácido protocatecuico.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

Segundo Murthy & Naidu (2012), todos os subprodutos e resíduos do processamento de café são ricos em compostos fenólicos, sendo, desse modo, matérias primas com destacado potencial para a produção de compostos de alto valor agregado. De acordo com Campos-Vega *et al.* (2015), a recuperação de compostos fenólicos dos subprodutos da indústria de café e as respectivas atividades antioxidantes têm sido recentemente investigadas. Subprodutos de café, como cascas (FRANCA; OLIVEIRA, 2009), polpa (PANDEY *et al.*, 2000) e borra (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015) apresentam quantidades significativas de compostos fenólicos.

Os ácidos clorogênicos (ACG) são considerados os compostos fenólicos de maior relevância e os que apresentam em maior quantidade no café (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). É possível dizer que os ácidos clorogênicos são um conjunto de cinco grupos principais de compostos fenólicos e seus isômeros formados, principalmente pela esterificação do ácido quínico com um dos seguintes derivados do ácido cinâmico: ácido cafeíco, ácido ferúlico ou ácido *p*-cumárico. Estes grupos são: ácidos cafeoilquínicos, ácidos dicafeoilquínicos, ácidos feruloilquínicos, ácidos *p*-cumaroilquínicos e os ácidos cafeoilferuloilquínicos (MONTEIRO; TRUGO, 2005). Na Figura 10, apresenta-se a estrutura química do ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico), pertencente aos ácidos hidroxicinâmicos.

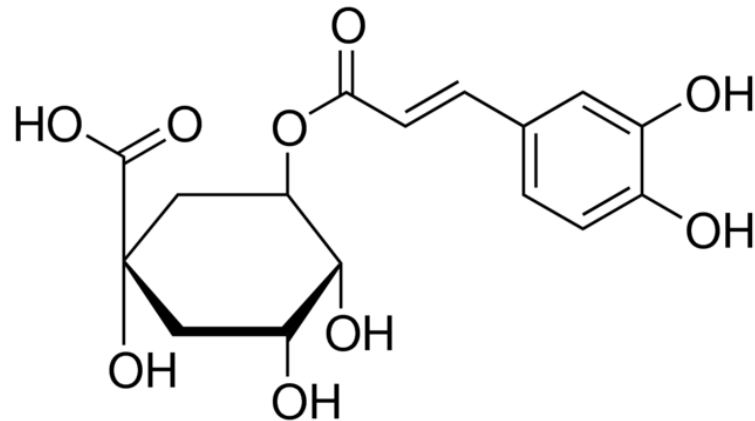


Figura 10 – Estrutura química do ácido clorogênico.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

Segundo Bravo *et al.* (1994), os compostos fenólicos podem ser classificados em dois grupos distintos de acordo com sua estrutura: os fenólicos extraíveis (FE) e os não extraíveis (FNE). Os extraíveis são compostos de baixa ou média massa molecular que podem ser extraídos empregando solvente aquoso-orgânico. Os grupos dos não extraíveis constituem-se de compostos de elevada massa molecular ou polifenóis ligados às fibras alimentares ou às proteínas e que podem ser encontrados nos resíduos das extrações. De acordo com Gonzales *et al.* (2015), as diferenças entre as frações fenólicas extraíveis e não extraíveis não têm sido claramente estudadas, existindo poucos ou nenhum dado de análises sobre estes compostos.

Fenólicos não extraíveis, que não são geralmente considerados em estudos de nutrição, podem exercer efeitos importantes sobre a saúde gastrointestinal, incluindo efeito quimiopreventivo para cancro colo-retal. São constituídos de taninos hidrolisáveis e taninos condensados associados com a fibra e a proteína alimentar (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Os taninos são compostos fenólicos presentes na maioria das plantas, que podem ter sua concentração variando de acordo com os tecidos vegetais, a idade e o tamanho da planta, a parte coletada, a época ou, ainda, o local da coleta (MONTEIRO *et al.*, 2005). Os taninos hidrolisáveis incluem os galitaninos e os elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico (Figura 11) e elágico (Figura 12). Este grupo de taninos pode ser detectado em elevadas concentrações,

principalmente em madeiras, cascas de árvores, folhas e galhos (MUELLER-HARVEY, 2001).

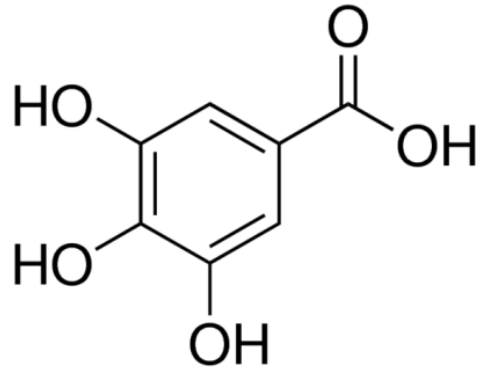


Figura 11 – Estrutura química do ácido gálico.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

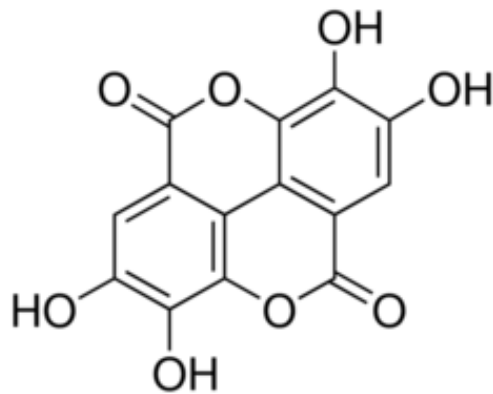


Figura 12 – Estrutura química do ácido elágico.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

Os taninos condensados ou proantocianidinas (PA) são polímeros de flavonóides com coloração variando de vermelho ao marrom (SCHOFIELD *et al.*, 2001). Estes apresentam importância marcante nos alimentos, pois a presença dos mesmos em baixas concentrações proporciona características sensoriais desejáveis, ditas como “o corpo da fruta”. No entanto, concentrações elevadas conferem aos frutos e outros alimentos características adstringentes. A sensação de adstringência é gerada devido à propriedade que os taninos apresentam em precipitar proteínas, ou seja, quando em contato com as proteínas presentes na saliva formam um complexo insolúvel que popularmente se caracteriza pela sensação de adstringência (DEGASPARI *et al.*, 2005).

Os taninos condensados agem como antioxidantes primários com o potencial de reduzir diretamente a formação de radicais livres, regenerar o α -tocoferol ou funcionar como quelantes de metais de transição envolvidos na formação de radicais livres (ZHU *et al.*, 2002). Pesquisas abordam os possíveis efeitos protetores da PA na saúde humana, incluindo estudos sobre doenças cardiovasculares e efeitos cardioprotetores e investigação sobre a atividade quimiopreventiva do cancro, mas a avaliação da associação entre o consumo de PA e incidência de prevenção de doenças tem sido dificultada pela falta de dados quantitativos de PA em alimentos e dietas. Portanto, os efeitos potenciais de prevenção de câncer pelas PAs em seres humanos podem ter sido subestimados até agora (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Estudos mostram que quantidades significativas de PA polimérico e PAs complexados com proteínas ou polissacarídeos permanecem nos resíduos da extração. O conteúdo destas proantocianidinas não extraíveis (NEPA) em alimentos de origem vegetal é superior ao de PA extraível (EPA), mas geralmente não são considerados em estudos nutricionais (ZURITA *et al.*, 2012). Na Figura 13, está representado como se obtém os compostos fenólicos extraíveis e não extraíveis e as proantocianidinas extraíveis e não extraíveis.

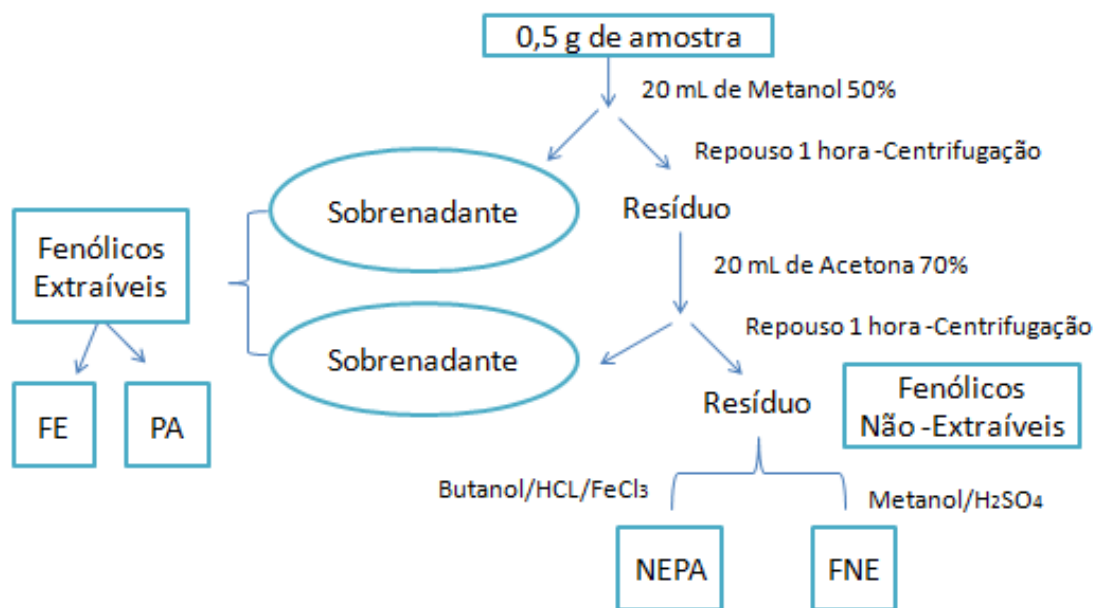


Figura 13 – Métodos de obtenção de fenólicos extraíveis e não extraíveis e proantocianidinas extraíveis e não extraíveis.

2.2.2 Cafeína

A cafeína (Figura 14), 1,3,7-trimetil-xantina, é um alcalóide da purina farmacologicamente ativo, pertencente ao grupo das xantinas. Suas principais fontes alimentares são café, mate e guaraná, sendo um dos mais poderosos estimulantes da natureza. Este alcalóide é removido a partir dos grãos de café pelo processo de descafeinação, utilizado em escala industrial, para utilização em aplicações farmacêuticas e alimentares (MONTEIRO; TRUGO, 2005; CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; FRANCA; OLIVEIRA, 2009).

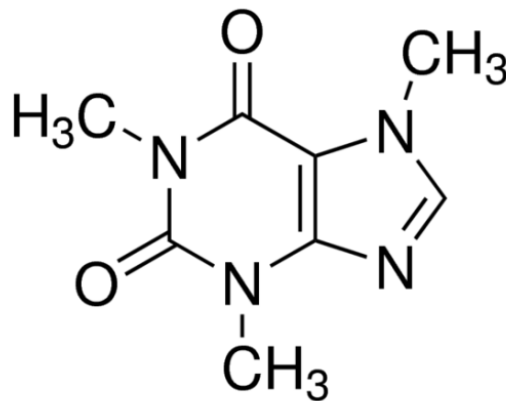


Figura 14 – Estrutura química da cafeína.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

A cafeína é o principal alcalóide nos grãos de café, representando de 1 a 2 % (base seca), com grande variação entre os cultivares. É o principal material para o qual o efeito de estimulação do café é atribuído. A cafeína é inodora e apresenta sabor amargo bastante característico, contribuindo com uma nota de amargor importante para o sabor e aroma da bebida de café (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012; MONTEIRO; TRUGO, 2005).

A cafeína é a única xantina presente no café em quantidades significativas, porém, há relatos não confirmados da presença de traços de teofilina e teobromina. O conteúdo de cafeína no café cru varia muito, sendo a diferença de espécies o fator mais relevante. No entanto, mesmo dentro de uma espécie ocorre variação. O café robusta, em geral, tem um teor de cafeína superior ao do café arábica (MACRAE, 1987).

Devido às propriedades fisiológicas e farmacológicas, a cafeína é o componente do café mais conhecido, sendo de grande interesse para os setores farmacêuticos, de cosméticos e de alimentos. A indústria de cosméticos amplamente usa a cafeína como ingrediente ativo em cremes, devido as respectivas propriedades antioxidantes, lipolíticas, proteção contra os raios UV e efeitos termogênicos. A cafeína presente em cosméticos também aumenta a circulação sanguínea na pele e estimula o crescimento do cabelo pela inibição da atividade da α -redutase (TOSCHI *et al.*, 2014).

Dos diversos efeitos atribuídos à cafeína, alguns já apresentam comprovação científica, como a diminuição do sono, estimulante do músculo cardíaco e do sistema nervoso central, sendo, portanto, responsável por aumentar a agilidade, pois ocorre aumento da circulação sanguínea e respiração. Esta, provavelmente, é a principal razão para a popularidade do café. Outros possíveis benefícios da cafeína incluem melhora do humor, redução dos sintomas associados à doença de Parkinson e tremores (MONTEIRO; TRUGO, 2005; ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012). O'keefe *et al.* (2013) relataram que o consumo de café pode reduzir o risco de diabetes tipo 2 e hipertensão, bem como de outras condições associadas com o risco cardiovascular e proteção potencial contra doenças neurodegenerativas devido a presença de cafeína.

Apesar do teor de cafeína nos resíduos de café ser menor do que nos grãos de café, uma grande quantidade de cafeína ainda permanece nos resíduos. O teor mais elevado da cafeína pode ser extraído a partir dos resíduos de casca ou polpa de café (cerca de 45 % do fruto), podendo ser um material valioso para este fim (CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015). O teor de cafeína em cascas de café é de aproximadamente 1 %, sendo que seus efeitos fisiológicos foram relatados positivamente em animais alimentados com dietas contendo cascas de café (FRANCA; OLIVEIRA, 2009).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é o método mais eficiente utilizado para determinar cafeína, uma vez que é muito receptiva à cromatografia líquida utilizando sistemas de fase reversa (MACRAE, 1987).

2.2.3 Trigonelina

A trigonelina (Figura 15), N-metil betaína, está presente em torno de 1 % no grão cru de café e é um dos principais componentes (MORAIS *et al.*, 2009; CAMPOS-VEGA *et al.*, 2015; MONTEIRO; TRUGO, 2005; MURTHY; NAIDU, 2012). O nível de trigonelina encontrado no café verde depende da espécie, sendo que cafés arábicas contêm cerca de 1 % e robustas 0,7 %. A trigonelina tem pouca influência direta na qualidade da bebida de café, pois tem um gosto amargo fraco. Porém, contribui para o aroma por meio da formação de produtos de degradação durante a torração (MONTEIRO; TRUGO, 2005; MACRAE, 1987).

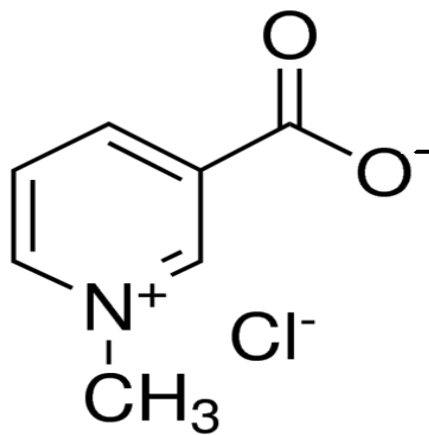


Figura 15 – Estrutura química da trigonelina.

Fonte: Sigma-Aldrich (2017)

A trigonelina é obtida na forma de cristais incolores, mono-higroscópicos (p.f. 130 °C) quando cristalizada a partir do etanol aquoso. Também pode ser obtida como a forma anidra quando se decompõe em fusão com temperatura de aproximadamente 218 °C. É muito solúvel em água, mas moderadamente solúvel em solventes orgânicos, tais como clorofórmio ou diclorometano (MACRAE, 1987).

Em contraste com a cafeína, a trigonelina é amplamente distribuída no reino vegetal (ASHIHARA, 2015). Matsui *et al.* (2007) relataram uma maior concentração de trigonelina nas sementes de algumas espécies vegetais, incluindo o café. Estas espécies são: trevo (*Trifolium incarnatum*, 10,1 mg/g de massa fresca), café (*C. arábica*, 9,1 mg/g de massa fresca) e alfafa (*Medicago sativa*, 2,1 mg/g de massa fresca).

A trigonelina tem várias atividades biológicas, incluindo ação contra a cárie dentária e atividade anti-invasiva contra as células cancerosas (ASHIHARA, 2015). Além disso, estudos têm mostrado que o extrato de café torrado tem atividade antibacteriana contra vários microrganismos, tais como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* e várias cepas de enterobactérias, provavelmente devido à atividade antibacteriana de vários componentes característicos do café, como o ácido caféico, trigonelina, cafeína, ácido clorogênico e ácido protocatecuico (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Métodos de cromatografia líquida de alta eficiência e métodos baseados na ressonância magnética nuclear são muito utilizados para determinação de trigonelina em diversos alimentos (MACRAE, 1987).

2.2.4 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são os componentes presentes no grão de café em maior quantidade, sendo que a espécie robusta apresenta maior quantidade que a espécie arábica (MONTEIRO; TRUGO, 2005). Os grãos de café cru são compostos principalmente, como a maioria dos tecidos vegetais, por polissacarídeos insolúveis, como celulose e hemicelulose (cerca de 50 %). Eles também contêm carboidratos solúveis, como os monossacarídeos frutose, glicose, galactose, manose, arabinose e glicose. Carboidratos solúveis agem como retores de aromas, estabilizante de espuma e intensificadores de viscosidade de extratos (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Os polissacarídeos no café são compostos por três tipos principais: mananas ou galactomananas, arabinogalactanas-proteína (AGP) e celulose (REDGWELL; FISCHER, 2006). Além disso, têm-se relatos da presença de pequenas quantidades de polissacarídeos pécticos (REDGWELL *et al.*, 2002) e xiloglucanas (OOSTERVELD *et al.*, 2003).

As galactomananas (Figura 16) são os componentes predominantes na parede celular do grão de café, sendo responsáveis por 50 % dos polissacarídeos presentes no grão (REDGWELL; FISCHER, 2006). Estas são compostas por um eixo estrutural de resíduos de β -D-manose unidos por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4),

com grupos laterais de α -D-galactose, ligados por meio de ligações (1 \rightarrow 6) (SIMÕES *et al.*, 2014).

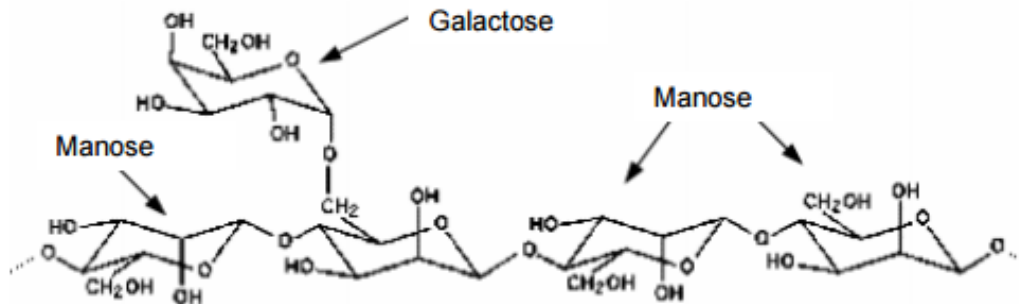


Figura 16 – Estrutura parcial de galactomananas.

Fonte: Sittikijyothin *et al.* (2005)

As arabinogalactanas são compostas por arabinose e galactose e podem ser encontradas tanto na forma livre como ligadas a proteínas por ligações covalentes. Segundo Clarke *et al.* (1979), as arabinogalactanas classificam-se em dois grupos principais: grupo I (arabino-4-galactana) e grupo II (arabino-3,6-galactana). As arabino-4-galactanas (Figura 17) são compostas por unidades de galactopiranosose interligadas por ligações β (1 \rightarrow 4). Na cadeia principal de galactana, apresentam-se ramificações de arabinose.

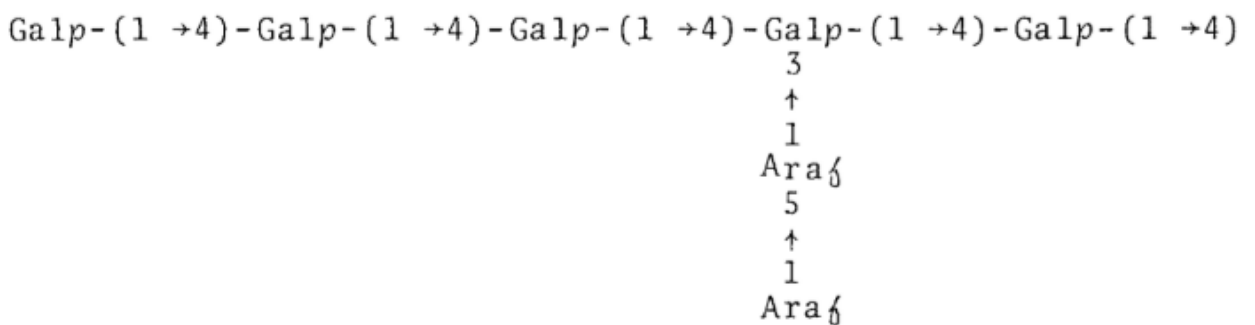


Figura 17 – Estrutura da arabino-4-galactana.

Fonte: Clarke *et al.* (1979)

Nogueira & Lago (2009) encontraram xilose em cafés adulterados com casca de café, o que indica a presença dos polissacarídeos xilana e xiloglucanas em cascas de café. A xilana (Figura 18) é a hemicelulose mais comum em plantas

anuais como gramíneas, cereais e ervas e é formada por unidades do monômero de d-xilopiranosose interligadas por ligações β (1 \rightarrow 4) (SOUZA *et al.*, 2016).

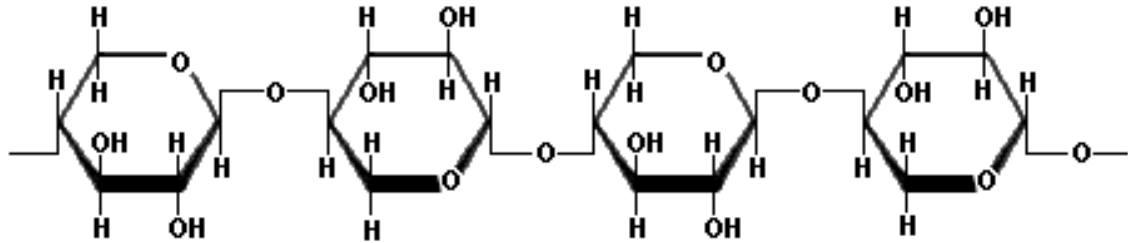


Figura 18 – Estrutura da xilana.

Fonte: Xilana (2017)

A xiloglucana (Figura 19) é o principal polissacarídeo hemicelulósico encontrado na parede celular primária de angiospermas. As xiloglucanas são formadas por uma cadeia principal de glicose unidas por ligações β -1,4, em que três de cada quatro moléculas de glicose contêm uma xilose ligada ao carbono 6. Nas cadeias laterais de xilose, estão presentes também outros monossacarídeos como a galactose e, em alguns casos, a fucose (WROLSTAD, 2013).

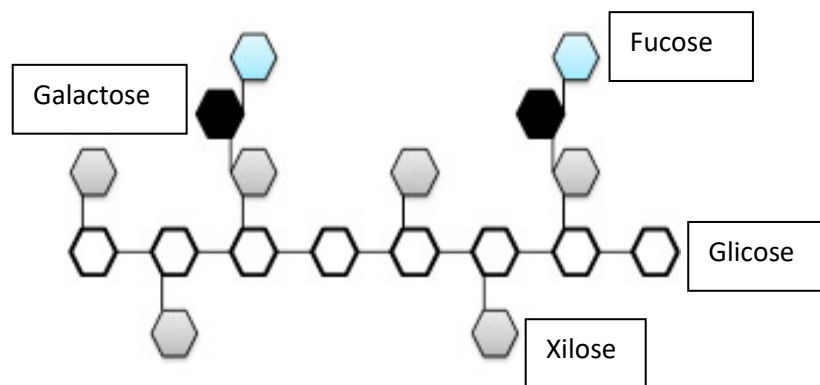


Figura 19 – Estrutura da xiloglucana.

Fonte: Xiloglucana (2017)

Por vários anos, os efeitos fisiológicos do café têm sido focados no respectivo teor de cafeína, ignorando-se os outros componentes bioativos presente neste grão, como os polissacarídeos, que são responsáveis por atividades nutricionais e promotoras da saúde (PETKOWICZ, 2015).

Segundo Murthy & Naidu (2012), os resíduos agrícolas são ótima fonte de fibra alimentar, devido à presença de polissacarídeos. Petkowicz (2015) relata que, de um ponto de vista nutricional, os polissacarídeos do café constituem fibras alimentares solúveis, mas eles não são despolimerizados por enzimas intestinais no humano. Outro efeito fisiológico dos polissacarídeos do café é as propriedades imunoestimuladoras. As galactomananas e arabinogalactanas de café, dentre outras propriedades, têm demonstrado atividades imunoestimulantes *in vitro* (PASSOS; COIMBRA, 2013).

2.3 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Cromatografia é definida como um processo de separação de componentes, em que a mistura é distribuída em duas fases (estacionária e móvel). A fase estacionária pode ser qualquer material sólido, poroso, tenso-ativo em forma de partículas pequenas ou uma película fina de líquido revestido sobre um suporte sólido. A fase móvel pode ser um gás ou um líquido. Se um gás for usado, o processo é denominado cromatografia a gás e se um líquido for utilizado, é denominado cromatografia líquida (MEYER, 1993).

Segundo Meyer (1993), a cromatografia líquida mais utilizada e aperfeiçoada é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Este método utiliza uma coluna reaproveitável e a vazão da fase móvel é de fácil controle, deixando as análises mais precisas, pois as operações se tornam mais reprodutíveis. Porém, a CLAE pode ocasionar alguns riscos para a saúde do manipulador, como o uso de solventes tóxicos, irritação pulmonar devido à fase estacionária e perigos devido ao uso de altas pressões.

Como a CLAE, a cromatografia a gás (CG) também é um método de alta eficiência. Dentre as principais vantagens da CG está a alta sensibilidade, requerendo apenas pequenas quantidades de amostra. Porém, a técnica requer a preparação de derivados voláteis. A CG pode apenas lidar com substâncias voláteis ou que podem ser evaporadas intactas a temperaturas elevadas ou a partir do qual os derivados voláteis podem ser obtidos de forma viável. Apenas cerca de 20 % de compostos orgânicos conhecidos podem ser analisados por CG sem tratamento

anterior (MEYER, 1993). Na Tabela 4, apresenta-se uma comparação entre CG e CLAE em relação a possíveis empecilhos que podem apresentar.

Tabela 4 – Possíveis dificuldades nos métodos de cromatografia a gás e cromatografia líquida de alta eficiência.

	CG	CLAE
Dificuldade de separação	Possível	Possível
Método demorado	Não	Não
Automação	Possível	Possível
Adaptação do sistema para problemas de separação	Pela mudança da fase estacionária	Pela mudança das fases estacionária e móvel
Aplicação restrita para	Falta de volatilidade, Decomposição térmica	Insolubilidade

Fonte: Meyer (1993)

As técnicas cromatográficas mais utilizadas para separação e quantificação de açúcares são a cromatografia a gás e a cromatografia líquida de alta eficiência (CUI, 2005). A CG é bem esclarecida para análise de açúcares, enquanto a CLAE tem limitações. A ausência de cromóforos na amostra dificulta a análise por CLAE, uma vez que a maioria dos equipamentos utiliza detecção ultravioleta (TAPIE *et al.*, 2008). Para análise de monossacarídeos por CG, várias opções de derivados são possíveis. Um dos métodos mais vantajosos é a formação de acetatos de alditóis, pois a redução dos monossacarídeos impede a formação de anômeros e, conseqüentemente, de múltiplos picos (RUIZ-MATUTE *et al.*, 2011).

Cromatografia líquida é a maneira mais rápida para determinar a presença de cafeína e trigonelina em bebidas, obtendo resultados em 5 minutos (MEYER, 1993) e tem sido a técnica mais empregada na análise de compostos fenólicos presentes em diversos vegetais: erva-mate (DUTRA *et al.*, 2010), café torrado (MORAIS *et al.*, 2009; MONTEIRO; TRUGO, 2005), repolho vermelho e couve de Bruxelas (GONZALES *et al.*, 2015), batata (NAVARRE *et al.*, 2011), dentre outros.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA

Para a realização dos experimentos, foram utilizados dois tipos de cascas de café da espécie arábica provenientes do processamento a seco dos frutos. Foram utilizadas cascas de café secas (CS1), compostas por pele exterior e polpa (80 %) e pergaminho (20 %), fornecidas pelo Sindicato da Indústria de Café do Estado de Minas Gerais (SINDICAFÉ - MG) e cascas e café secas (CS2), compostas por pele exterior e polpa (28 %) e pergaminho (72 %), fornecidas pela Fazenda Santa Inês situada no município Carmo de Minas (MG). As amostras foram armazenadas em potes plásticos e mantidas em temperatura ambiente. Nas Figuras 20 e 21, são mostradas as amostras CS1 e CS2, respectivamente.



Figura 20 – Cascas de café secas com pequenas quantidades de pergaminho (CS1).



Figura 21 – Cascas de café secas com pequenas quantidades de pele exterior e polpa (CS2).

3.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

O preparo das amostras e todas as análises foram realizados no laboratório do Grupo de Aproveitamento de Resíduos Agroindustriais/DEMEC no departamento de engenharia mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais. Para o preparo das amostras, foram retiradas, manualmente, sujidades grosseiras presentes nas cascas, como galhos e pedras. Em seguida, as cascas de café foram lavadas em água corrente para garantir melhor eliminação de possíveis sujidades provenientes da colheita de café. O excesso de água foi retirado por meio de peneira. Metade das amostras foi branqueada, seguindo as mesmas condições que Chantaro *et al.* (2008) utilizaram para cascas de cenoura, com pequenas alterações. Após lavadas, metade das amostras foi imersa em água à temperatura de 90 ± 2 °C por 1 minuto, sendo rapidamente resfriadas em recipiente contendo água e gelo. Após a realização do branqueamento, as amostras branqueadas e não branqueadas foram secas em estufa convectiva New Lab durante 6 horas à temperatura de 60 ± 2 °C.

Após a etapa de secagem, as cascas de café foram transformadas em pó com auxílio do moedor de café doméstico Cadence Modelo MDR 301. Os pós foram classificados em uma peneira de 35 Mesh (série Tyler). Em seguida, os pós obtidos menores que 35 Mesh (Figura 22) foram acondicionados em sacos plásticos com lacre e armazenados sob congelamento em freezer doméstico a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da realização das análises. As amostras foram codificadas de maneira a simplificar a identificação, conforme mostrado na Tabela 5.



Figura 22 – Amostras de cascas de café (branqueadas e não branqueadas) limpas, secas e transformadas em pó.

Tabela 5 – Codificação e descrição das amostras.

Amostra	Descrição
CS1b	Casca de café seca composta majoritariamente por pele exterior e polpa, branqueada
CS1	Casca de café seca composta majoritariamente por pele exterior e polpa, não branqueada
CS2b	Casca de café seca composta majoritariamente por pergaminho, branqueada
CS2	Casca de café seca composta majoritariamente por pergaminho, não branqueada

3.3. MÉTODOS

3.3.1 Quantificação de compostos fenólicos extraíveis

Os compostos fenólicos extraíveis foram obtidos seguindo a metodologia utilizada por Arranz *et al.* (2009), com pequenas modificações. Em tubos Falcon de 50 mL envolvidos por papel alumínio, contendo aproximadamente 0,5 gramas de cada amostra, foram adicionados 20 mL de metanol 50 %. Em seguida, as amostras foram agitadas em vórtex e deixadas em repouso por 1 hora em ambiente escuro (temperatura ambiente). Após o repouso, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos e os sobrenadantes foram coletados em balões volumétricos de 50 mL. Aos resíduos resultantes foram adicionados 20 mL de acetona 70 % e, novamente, as amostras foram agitadas e deixadas em repouso por 1 hora em ambiente escuro (temperatura ambiente). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos. Encerrada a centrifugação, os sobrenadantes foram coletados e adicionados aos obtidos na extração com metanol. Os balões volumétricos contendo os extratos obtidos foram completados com água destilada até o menisco. Desta maneira, os fenólicos extraíveis ou livres foram obtidos. Os extratos (Figuras 23 e 24) foram armazenados em tubos Falcon a -18 °C até a quantificação dos fenólicos extraíveis.



Figura 23 – Extratos obtidos das amostras CS1 e CS1b, respectivamente, para quantificação de fenólicos extraíveis.



Figura 24 – Extratos obtidos das amostras CS2 e CS2b, respectivamente, para quantificação de fenólicos extraíveis.

A quantificação dos compostos fenólicos extraíveis foi feita pelo ensaio Folin-Ciocalteu (seção 3.3.3). Os resíduos resultantes da extração dos fenólicos extraíveis foram colocados em placas de petri e submetidos à secagem em estufa convectiva Nova Ética a 35 °C por 17 horas para serem utilizados na extração dos fenólicos não extraíveis (taninos condensados e taninos hidrolisáveis).

3.3.2 Quantificação de Taninos Hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis foram obtidos pela hidrólise ácida seguindo a metodologia usada por Arranz *et al.* (2009). Em tubos Pyrex envolvidos com papel alumínio, foram adicionados 20 mL de metanol e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado nos resíduos resultantes da extração dos fenólicos extraíveis secos. Após a adição dos solventes, as amostras foram acondicionadas em banho tipo Dubnoff com temperatura de 85 °C por 20 horas. Os recipientes contendo as soluções foram fechados com força para evitar a evaporação dos solventes e que os espaços vazios funcionassem como condensadores. Após o resfriamento das amostras, estas foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos e os sobrenadantes

foram recolhidos. A quantificação dos taninos hidrolisáveis foi feita pelo ensaio Folin-Ciocalteu (seção 3.3.3).

3.3.3 Ensaio Folin-Ciocalteu

Esta metodologia se fundamenta na redução do ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico, em meio alcalino, pelas hidroxilas fenólicas presentes numa solução. O complexo de coloração azul, produzido pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos fenólicos, é medido espectrofotometricamente.

Em tubos Falcon de 15 mL envoltos com papel alumínio, foi adicionado 1 mL dos extratos fenólicos obtidos, 1 mL de solução do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 2 mL de carbonato de sódio (20 %) e 2 mL de água destilada. Em seguida, os tubos foram agitados vigorosamente em vórtex e deixados em repouso por 90 minutos em ambiente escuro. Foram realizadas leituras das amostras em espectrofotômetro UV-VIS, utilizando-se o comprimento de onda de 700 nm. O espectrofotômetro foi zerado com solução branco (1 mL de água destilada e todos os reagentes adicionados nos extratos) (OBANDA; OWUOR, 1997).

A curva de calibração foi feita com o padrão ácido gálico. Plotou-se no Microsoft *Excel* as concentrações de ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) no eixo X versus as respectivas absorbâncias no eixo Y e calculou-se a equação da reta (APÊNDICES A e B). Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico/100 g de produto (mg EAG/100 g).

3.3.4 Quantificação de Proantocianidinas Totais

Esta metodologia fundamenta-se na hidrólise ácida do polímero de proantocianidina em antocianina na presença de sais de ferro, que é responsável pela catálise da reação, formando-se um complexo de coloração vermelha. A cor vermelha produzida é medida espectrofotometricamente.

Para a quantificação de proantocianidinas extraíveis foi utilizada a metodologia descrita por Antunes (2011). Foram adicionados 10 mL de n-butanol-

HCL (95:5 v/v) contendo 0,7 g/L de cloreto de ferro e 1,5 mL dos extratos (obtidos na extração dos compostos fenólicos extraíveis – seção 3.3.1) em tubos Falcon de 50 mL envoltos por papel alumínio. Os tubos foram agitados em vórtex por alguns segundos, tampados de maneira que a tampa ficasse frouxa e levados a banho-maria Fisatom em ebulição por 50 minutos. Após resfriados os tubos com água, a absorbância foi lida nos comprimentos de onda de 450 nm e 550 nm, utilizando-se espectrofotômetro UV-Vis. O espectrofotômetro foi zerado com solução branco (n-butanol-HCl (95:5 v/v) e cloreto de ferro). A curva de calibração (APÊNDICE C) utilizada foi fornecida por Zurita *et al.* (2012), uma vez que a solução padrão de proantocianidina polimérico não estava disponível no laboratório. Os autores relataram que a curva de calibração pode ser utilizada como padrão em qualquer laboratório de pesquisa. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de PA/100g de amostra. Na Figura 25, são mostrados os extratos de proantocianidinas extraíveis lidos no espectrofotômetro UV-vis.

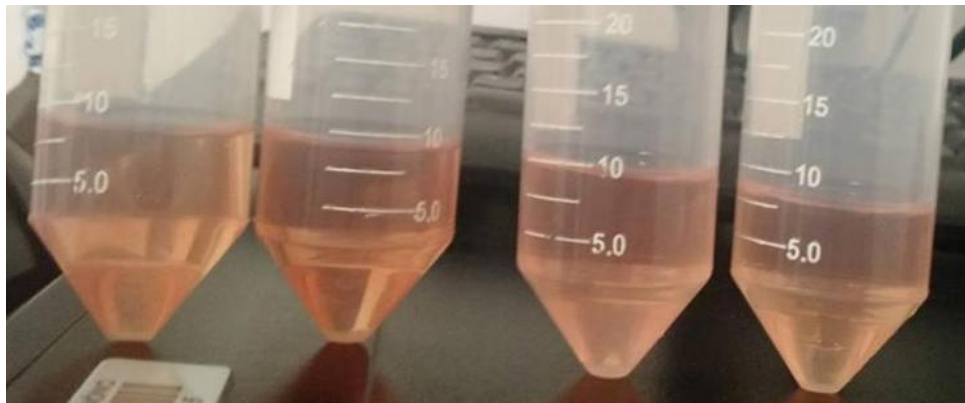


Figura 25 – Extratos de proantocianidinas extraíveis das amostras CS1, CS1b, CS2 e CS2b, respectivamente.

Para a quantificação de proantocianidinas não extraíveis, foi utilizada a metodologia descrita por Zurita *et al.* (2012). Em tubos Falcon de 50 mL envoltos com papel alumínio, foram adicionados 10 mL de n-butanol-HCl (95:5 v/v), contendo 0,7 g/L de cloreto de ferro nos resíduos resultantes da extração dos compostos fenólicos extraíveis secos. Os tubos foram submetidos à agitação em vórtex e foram colocados em banho-maria Fisatom a 100 °C por 50 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 3.500 rpm por 15 minutos. Os sobrenadantes foram recolhidos em balões volumétricos de 25 mL. As amostras foram lavadas duas vezes com 5 mL de n-butanol-HCl (95:5 v/v), contendo 0,7 g/L de cloreto de ferro. Em seguida, foi

realizada a leitura da absorbância nos comprimentos de onda de 450 nm e 550 nm em espectrofotômetro UV-Vis. O espectrofotômetro foi zerado com solução branco (n-butanol-HCl (95:5 v/v) e cloreto de ferro). A curva de calibração (APÊNDICE C) utilizada foi a fornecida por Zurita *et al.* (2012) e os resultados foram expressos em mg de equivalente de PA/100 g de amostra. Na Figura 26, mostram-se os extratos de proantocianidinas não extraíveis lidos no espectrofotômetro UV-Vis.

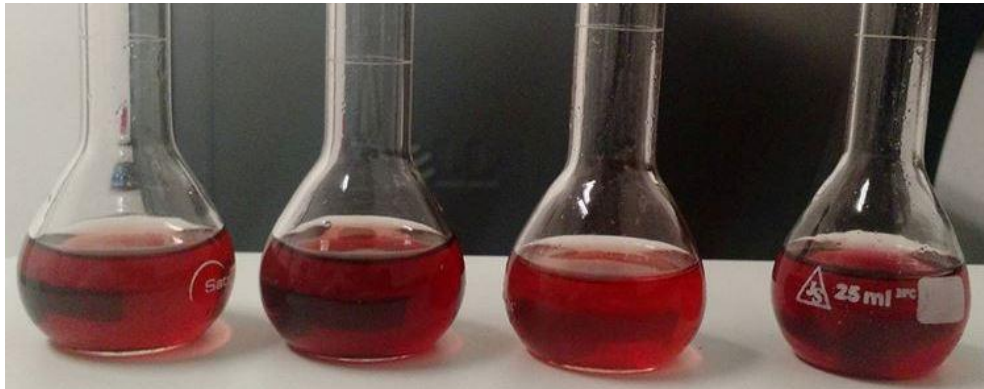


Figura 26 – Extratos de proantocianidinas não extraíveis das amostras CS1, CS1b, CS2 e CS2b, respectivamente.

3.3.5 Preparo de vidrarias para análises cromatográficas

Antes de iniciar as análises cromatográficas, as vidrarias necessárias foram lavadas para garantir que não houvesse interferência na leitura dos compostos. As vidrarias foram imersas em solução de extran MA 02 5 % durante 22 horas. O recipiente foi tampado com papel alumínio para evitar que sujidades se depositassem na solução. Após o repouso, foi realizado o enxágue das vidrarias em água corrente até completa remoção do detergente. Em seguida, foi realizado outro enxágue com água destilada. As vidrarias volumétricas foram colocadas para secar em superfície limpa e forrada com papel alumínio e as vidrarias comuns foram colocadas em estufa convectiva New Lab a 60 °C por 4 horas. Após a secagem, as vidrarias foram envoltas com papel alumínio e armazenadas até o momento das análises.

3.3.6 Identificação e quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência

A extração dos compostos fenólicos foi baseada nas metodologias realizadas por Mussato *et al.* (2011), Belguidoum *et al.* (2014) e Ballesteros *et al.* (2014), com modificações. Antes de iniciar a extração, foi adicionado clorofórmio nas amostras, com o objetivo de desengordurá-las. As amostras foram agitadas em vórtex e filtradas através de papel filtro. O clorofórmio foi descartado e as amostras foram secas a temperatura ambiente por 17 horas. Foi pesado 0,15 g de cada amostra desengordurada e seca em tubos Falcon de 50 mL envoltos com papel alumínio. Em seguida, foram adicionados 10 mL de metanol 50 % nas amostras e as mesmas foram submetidas à agitação em banho tipo Dubnoff a 65 °C por 1 hora. Após a agitação, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos e os sobrenadantes foram coletados em balões volumétricos de 25 mL. Aos resíduos resultantes, foram adicionados 10 mL de metanol 75 % e novamente as amostras foram agitadas em banho tipo Dubnoff (65 °C – 1 hora) e centrifugadas (3.500 rpm – 15 minutos). Os sobrenadantes foram adicionados aos obtidos na primeira extração. Aos resíduos resultantes, foram adicionadas 5 mL de metanol 100 % e os mesmos procedimentos das outras extrações foram repetidos. Os sobrenadantes foram adicionados aos obtidos nas extrações anteriores e os balões volumétricos foram completados até o menisco com metanol 100 %. Os balões foram agitados em vórtex e os extratos foram filtrados com seringas acopladas em filtros micropore 0,2 µm.

O método de análise no cromatógrafo utilizado foi o utilizado por Leão (2017). Foi utilizado o cromatógrafo de fase líquida marca Shimadzu modelo Prominence, com as seguintes condições cromatográficas:

- coluna de fase reversa C-18 marca Shimadzu (4,6 µm x 150 mm), tamanho de partículas 5 µm e pré coluna com as mesmas condições;
- volume de injeção: 5 µL;
- temperatura do forno: 50 °C;
- sistema gradiente com fluxo de 1,2 mL/min;
- fase móvel A: água:acetonitrila (92,6:7) com 0,4 % de ácido fosfórico;
- fase móvel B: acetonitrila com 0,4 % de ácido fosfórico; e

- sistema DAD: 203 – 325 nm.

O gradiente de concentração das fases móveis foi de acordo com o apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 – Programação de gradiente de concentração de fase móvel para análise de compostos fenólicos por CLAE.

Tempo (min.)	Concentração Fase B (%)
0 – 8	1 – 3
8 – 12	3 – 8
12 – 15	8 – 10
15 – 20	10 – 15
20 – 25	15 – 40
25 – 30	40 – 80
30 – 35	80 – 95
35 – 35,1	95 – 1
35,1 – 42	1

A identificação dos compostos fenólicos nas amostras foi feita utilizando o tempo de retenção e o espectro dos padrões individuais (APÊNDICES D e E). A quantificação foi feita por meio das curvas de calibração dos padrões (APÊNDICES F e G). Plotou-se no Microsoft *Excel* as concentrações ($\mu\text{g/mL}$) no eixo X versus as respectivas áreas (mAU) no eixo Y e calculou-se a equação da reta. Os padrões utilizados foram: ácido gálico, ácido hidroxibenzoico, etil galato, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido clorogênico, ácido cafeíco, proancianidina B2, ácido protocatecuico, catequina, epicatequina e ácido elágico.

3.3.7 Avaliação da composição química dos polissacarídeos por cromatografia a gás

A determinação dos monossacarídeos constituintes dos polissacarídeos das amostras foi realizada seguindo a metodologia apresentada por Melton & Smith (2001). A primeira etapa consiste na hidrólise das ligações glicosídicas com ácido trifluoracético (TFA). Primeiramente, foram pesados 5 mg de cada amostra em tubos de borosilicato extremamente limpos e secos. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL de TFA 2M em cada tubo. O TFA também foi adicionado em um tubo controle e o mesmo foi submetido aos mesmos procedimentos subsequentes. Os tubos foram evacuados com gás nitrogênio para remover todos os vestígios de ar e, em seguida, foram tampados com tampas com inserção revestida de teflon. Os tubos foram submetidos a agitação em vórtex com cuidado para não difundir o material sólido acima do nível do líquido e depois foram incubados por 60 minutos a 120 ± 2 °C em bloco de aquecimento e, em seguida, resfriados. Foram adicionados 25 µL de alose 20 mg/mL em cada tubo e os mesmos foram submetidos a agitação em vórtex. Os hidrolisados foram filtrados utilizando seringa acoplada com filtro micropore 0,2 µm em tubos de borosilicato. Para que fosse possível a filtração, foi necessário adicionar 300 µL de água Milli-Q-purificada aos hidrolisados. Os filtrados foram submetidos a corrente de ar nitrogênio até completa secagem.

A próxima etapa foi a redução dos monossacarídeos a seus acetatos de alditóis correspondentes. Foram adicionados aos hidrolisados secos 100 µL de água Milli-Q-purificada. Dois tubos limpos foram separados como controle, em um deles foram adicionados 100 µL de água Milli-Q-purificada e no outro foram adicionados 100 µL de cada um dos 13 padrões de monossacarídeos. Depois foram adicionados 20 µL de amônia (15 M) e 1 mL de borohidreto de sódio (0,5 M) em dimetilsulfóxido (DMSO) em todos os tubos. Os tubos foram tampados e misturados em vórtex. Em seguida, os tubos foram incubados por 90 minutos a 40 °C em banho-maria Fisatom. Após o aquecimento, foram adicionados 100 µL de ácido acético 18 M em cada tubo e, em seguida, foram submetidos a agitação em vórtex.

Para a acetilação dos alditóis, foram adicionados 200 µL de 1-metilimidazol e 2 mL de anidrido acético em cada tubo e, em seguida, agitação em vórtex. Os tubos foram incubados por 10 minutos em temperatura ambiente. Após o

repouso, 5 mL de água Milli-Q-purificada foram adicionados aos tubos para eliminar o excesso de anidrido acético, e novamente foram agitados em vórtex e incubados por 10 minutos à temperatura ambiente. Após o repouso, 1 mL de diclorometano (DCM) foi adicionado nos tubos para extrair os acetatos de alditóis e foram submetidos a agitação em vórtex. Os tubos não foram tampados, pois a cola em volta das tampas de teflon pode solubilizar o DCM. Após as fases se separarem, a fase inferior de DCM foi transferida para um tubo limpo de borosilicato utilizando pipeta de Pasteur. Em seguida, foi adicionado 1 mL da solução original de DCM e o processo de extração foi repetido. Foram adicionados 4 mL de água Milli-Q-purificada para combinar com o extrato de DCM e os tubos foram agitados em vórtex. A fase aquosa superior foi retirada e descartada e, novamente, foram adicionados 4 mL de água Milli-Q-purificada. O processo de lavagem foi repetido 3 vezes. O DCM foi evaporado completamente com gás nitrogênio e foram adicionados 2 mL de DCM.

As amostras foram submetidas à corrida cromatográfica. O tempo de execução foi de 38 minutos. Foram injetados 2 μ L de amostras e controles em cromatógrafo a gás marca Varian 3900 modelo CP8810. Os acetatos de alditóis de referência eluem na coluna BPX-70 na seguinte ordem: triacetato de iritritol, tetraacetato de 2-dioxiribitol, ramitol pentaacetato, fucitol pentaacetato, ribitol pentaacetato, arabixitol pentaacetato, xilitol pentaacetato, 2-dioxiglucitol hexaacetato, alitol hexaacetato, manitol hexaacetato, galactiol hexaacetato, glucitol hexaacetato e mioinositol hexaacetato. A identificação dos monossacarídeos nas amostras foi verificada utilizando os padrões individuais (APÊNDICE H). A razão molar relativa (RMR) de cada monossacarídeo nas amostras foi calculada relativa ao padrão interno, alose. A resposta relativa do detector para os acetatos de alditóis foi calculada individualmente pela área sob os picos para cada acetato de alditol.

Os cálculos foram feitos de acordo com Ferraz (1991). Este método corrige possíveis perdas que possam ter ocorrido durante a derivatização e as diferenças de respostas fornecidas pelo detector aos diferentes açúcares (CUI, 2005).

As condições cromatográficas foram:

- coluna capilar BPX-70 (30 m x 0,32 mm e 0,25 µm de espessura do filme; SGE Chromatography Products);
- temperatura inicial do forno: 38 °C - durante 30 segundos. Após este tempo ocorreu aumento de 50 °C por minuto até atingir 170 °C. Feito isso, a temperatura foi elevada em 2 °C por minuto até alcançar 230 °C, mantendo-se esta temperatura por 5 minutos;
- temperatura do detector: 250 °C;
- temperatura do injetor: 230 °C;
- detector de ionização de chama: 9,5 cm;
- injetor CP-1177: 3,7 cm;
- gás de arraste: nitrogênio a um fluxo de 1,5 mL/min; e
- Split: ½.

3.3.8 Otimização da extração de trigonelina

Vários experimentos em diversas áreas são planejados envolvendo o estudo de dois ou mais fatores sobre a variável resposta. Delineamento fatorial inclui estudar o efeito de cada fator (em alguns níveis pré-definidos) na variável resposta no experimento. Normalmente, dois níveis de cada um dos k fatores são considerados no estudo experimental, o que resulta no que é chamado design fatorial 2 k (ALCHEIKHHAMDON *et al.*, 2015).

Para otimização da extração de trigonelina, foi realizado um delineamento experimental com 2 níveis e 2 fatores (número de extrações e tempo de extração) e 3 pontos centrais. O delineamento foi realizado apenas com a amostra CS1, uma vez que todas as amostras são cascas de café e o melhor tratamento para uma amostra, provavelmente também o será para todas as outras. As metodologias utilizadas para extração de cafeína e trigonelina como base para montagem do delineamento foram as realizadas por Monteiro & Trugo (2005) em cafés torrados e por Perrone *et al.* (2008) em grãos de café verde e torrado. Na Tabela 6, são mostrados os tratamentos realizados para montagem do delineamento.

Para cada extração, foi pesado 0,1 grama de amostra em tubo Falcon de 50 mL, em seguida, foram adicionados 10 mL de água Milli-Q-purificada em

ebulição. Os tubos foram acondicionados em banho tipo Dubnoff (100 °C) com agitação por 5, 10 ou 15 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 10 minutos e os sobrenadantes foram recolhidos em balões volumétricos de 50 mL. Nos tratamentos com mais de 1 extração, foram adicionados 10 mL de água Milli-Q-purificada ao resíduo resultante e o processo de extração foi repetido. Os sobrenadantes foram adicionados aos obtidos na extração anterior. No fim das extrações, os balões tiveram o volume completado até o menisco.

Tabela 7 – Tratamentos realizados para montagem do delineamento experimental para otimização da extração de trigonelina em casca de café.

Tratamento	Número de extrações	Tempo de extração
1*	2	10 min.
2*	2	10 min.
3	3	5 min.
4*	2	10 min.
5	1	5 min.
6	1	15 min.
7	3	15 min.

*Ponto Central

Os extratos obtidos foram filtrados com filtros de 0,20 µm e injetados no cromatógrafo de fase líquida marca Shimadzu modelo Prominence. As condições cromatográficas foram:

- coluna de fase reversa C-18 marca Shimadzu (4,6 µm x 150 mm), tamanho de partículas 5 µm e pré coluna com as mesmas condições;
- volume de injeção: 5 µL;
- temperatura do forno: 27 °C;
- fase móvel: água:metanol (95:5);
- sistema isocrático com fluxo de 1,0 mL/min;
- duração da corrida: 10 minutos; e
- sistema de detecção DAD: 264 nm.

Para identificar a melhor extração foram utilizados apenas os resultados obtidos para a trigonelina e o melhor resultado também foi aplicado para a extração

da cafeína. A quantificação da trigonelina nos extratos foi feita pela curva de calibração do padrão de trigonelina (APÊNDICE I). Para análise dos resultados, foi realizado o teste de Tukey e o diagrama de pareto dos efeitos padronizados (obtido pelo Minitab 17). O diagrama de pareto avalia a relação ação-benefício, desta maneira, ele prioriza a ação que resultará um melhor resultado.

3.3.9 Quantificação de cafeína e trigonelina por cromatografia líquida de alta eficiência

A extração de cafeína e trigonelina foi feita de acordo com o melhor tratamento obtido na seção 3.3.8. Foi pesado 0,1 grama de cada amostra em tubos Falcon de 50 mL. Em seguida, foram adicionadas 10 mL de água Milli-Q-purificada em ebulição e os tubos foram acondicionados em banho tipo Dubnoff com agitação a temperatura de aproximadamente 100 °C por 5 minutos. As amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos e os sobrenadantes foram recolhidos em balões volumétricos de 50 mL. Foram adicionados, novamente, 10 mL de água Milli-Q-purificada em ebulição aos resíduos resultantes e o processo de extração foi repetido. Os sobrenadantes foram adicionados aos obtidos na primeira extração e o volume dos balões foi completado com água Milli-Q-purificada até o menisco. Os balões foram agitados em vórtex e os extratos foram filtrados com seringas acopladas em filtros micropore 0,2 µm. Antes da injeção no cromatógrafo, as amostras foram diluídas com água Milli-Q-purificada para a concentração de aproximadamente 0,0004 g/mL.

Os padrões foram preparados pesando 25 mg de trigonelina e cafeína em balões volumétricos de 50 mL. Os balões foram completados com água Milli-Q-purificada até o menisco. Da solução preparada, foram feitas diluições para construção das curvas de calibração, nas seguintes concentrações: 0,001, 0,0025, 0,005, 0,0075, 0,01 e 0,0125 mg/mL.

Foi utilizado o cromatógrafo de fase líquida marca Shimadzu modelo Prominence, com as seguintes condições cromatográficas (MONTEIRO; TRUGO, 2005):

- coluna de fase reversa C-18 marca Shimadzu (4,6 μm x 150 mm), tamanho de partículas 5 μm e pré coluna com as mesmas condições;
- volume de injeção: 5 μL ;
- temperatura do forno: 27 °C;
- tempo de corrida: 10 minutos;
- sistema isocrático com fluxo de 1,0 mL/min;
- fase móvel para cafeína: metanol:água (40:60);
- fase móvel para trigonelina: metanol:água (5:95);
- comprimento de onda para cafeína: 272 nm; e
- comprimento de onda pra trigonelina: 264 nm.

A identificação da cafeína e trigonelina nas amostras foram feitas utilizando o tempo de retenção e o espectro dos padrões individuais (APÊNDICES J e K). A quantificação foi feita por meio da curva de calibração dos padrões (APÊNDICES I e L). Plotou-se no Microsoft *Excel* as concentrações de cafeína e trigonelina ($\mu\text{g/mL}$) no eixo X versus as respectivas áreas no eixo Y e calculou-se a equação da reta.

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises foram conduzidas em triplicata, calculando-se média e desvio padrão para cada resultado obtido. Foi feita a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparar diferenças entre as médias. As diferenças entre essas médias no nível de 5 % foram consideradas significativas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Na Tabela 8, são apresentados os resultados obtidos para os teores de compostos fenólicos extraíveis e não extraíveis nas amostras de cascas de café analisadas.

Tabela 8 – Teores de compostos fenólicos extraíveis e não extraíveis de cascas de café.

Amostra	FE (mg EAG*/100 g)	FNE (mg EAG*/100 g)
CS1	983,054 ± 32,682 a	2.270,202 ± 127,489 a
CS1b	904,735 ± 9,474 b	3.002,164 ± 144,542 b
CS2	274,768 ± 6,348 c	2.535,051 ± 268,240 a
CS2b	196,311 ± 12,535 d	3.011,147 ± 118,730 b

*EAG = equivalente de ácido gálico

Letras diferentes na mesma coluna indica diferenças estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

As amostras CS1 e CS1b apresentaram elevado conteúdo de fenólicos extraíveis quando comparado às amostras CS2 e CS2b, o que já era esperado pela coloração dos extratos obtidos (Figuras 22 e 23), sendo que os extratos das amostras CS1 e CS1b apresentaram coloração bem mais acentuada. Como as amostras CS2 e CS2b continham elevada quantidade de pergaminho, pode-se deduzir que o pergaminho do café apresenta quantidade inferior de FEs que a pele externa (casca) de café. O que foi justificado por Stalikas (2007), que afirma que a maior concentração de compostos antioxidantes ocorre na pele externa, servindo estas de proteção aos frutos contra agentes agressores externos, como bactérias e insetos.

O branqueamento é um pré-tratamento que inativa as enzimas polifenoxidasas, responsáveis pela oxidação de compostos fenólicos (HELDMAN; HARTEL, 1998). Porém, as amostras que foram branqueadas apresentaram valores inferiores de FEs que as amostras não branqueadas, o que pode ter ocorrido devido à exposição das cascas a elevada temperatura durante o branqueamento, uma vez que compostos antioxidantes são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor (AZIZAH

et al., 1999). Desta maneira, pode-se dizer que o branqueamento não teve efeito na preservação dos compostos fenólicos extraíveis neste trabalho.

Os valores de FEs encontrados por Melo (2013) em casca de café seca (823,67 mg EAG/100 g) e por Baggio (2006) em extrato aquoso de cascas de café (288,64 mg EAG/100 g) foram inferiores aos encontrados neste trabalho para as amostras CS1 e CS1b e superiores aos encontrados para as amostras CS2 e CS2b. A variação de teores fenólicos encontrados por vários autores em um mesmo vegetal é justificada pela influência de diversos fatores na quantidade final de fenólicos totais, tais como: maturação, espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento (SOUSA *et al.*, 2010). Além disso, a quantidade de fenólicos presentes nos vegetais pode variar de acordo com fatores que não são intrínsecos ao alimento, como radiação solar, época do ano, períodos chuvosos ou não, radiação UV, dentre outros fatores, que podem interferir no metabolismo e produção de fenólicos nos alimentos (MACHADO *et al.*, 2008).

As cascas de café apresentaram valores inferiores de FEs do que aos encontrados em farinha de casca de jabuticaba (2.450 mg EAG/100 g) (MARQUETTI, 2014), casca de alho (2.500 mg EAG/100 g) (ZUORRO *et al.*, 2015) e abacate (5.160 mg EAG/100 g) (WANG *et al.*, 2010). Porém, todas as amostras tiveram resultados maiores de FEs que o encontrado por Martínez-Cruz & Paredes-López (2014) em semente de chia (164 mg EAG/100 g) e apenas a amostra CS1 teve resultado superior que o encontrado por Ajila *et al.* (2010) em manga (962 mg EAG/100 g).

Todas as amostras apresentaram teores elevados de FNEs, sendo que as amostras branqueadas apresentaram maior quantidade. Desta maneira, é possível dizer que o branqueamento favoreceu a preservação dos compostos fenólicos não extraíveis. Por estarem mais aprisionados na matriz da planta, estes compostos podem ter tido uma proteção maior em relação à elevada temperatura submetida durante o branqueamento. E, como as enzimas polifenoxidasas foram inativadas nas amostras branqueadas, houve uma maior conservação dos fenólicos não extraíveis.

Apesar das amostras CS2 e CS2b terem apresentado maior quantidade de FEs que as amostras CS1 e CS1b, elas não apresentaram diferenças

significativas de FNEs, podendo concluir que não há diferença dos compostos fenólicos não extraíveis presentes em pele externa (casca) e pergaminho do café.

Estudos relacionados à fração fenólica não extraível são limitados, sendo que a maioria dos estudos encontrados na literatura atualmente só aborda as concentrações de FEs, ignorando os compostos que ficam retidos nos resíduos da extração. Os estudos que avaliaram as frações fenólicas não extraíveis (ARRANZ; SAURA-CALIXTO, 2010; PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2009) tiveram resultados maiores para as frações fenólicas não extraíveis do que para as frações fenólicas extraíveis, o que está coerente com os resultados obtidos neste trabalho. Arranz *et al.* (2009) encontrou os seguintes valores de FEs e FNEs, respectivamente, em diversos vegetais: 14,9 mg/100 g e 80,3 mg/100 g (maçã), 25,91 mg/100 g e 52,8 mg/100 g (pêssego) e 10,27 mg/100 g e 65,8 mg/100 g (nectarina).

De acordo com Vasco *et al.* (2008), pode-se classificar os frutos em baixo (menor que 100 mg EAG/100 g), médio (de 100 a 500 mg EAG/100 g) e alto teor de compostos fenólicos (maior que 500 mg EAG/100 g). Com esta classificação, as amostras analisadas possuem alto teor de compostos fenólicos.

4.2. PROANTOCIANIDINAS TOTAIS

Na Tabela 9, são apresentados os resultados obtidos para as proantocianidinas totais. Os resultados obtidos para EPAs mostram que as amostras de cascas de café com pequena quantidade de pergaminho (CS1 e CS1b) apresentaram valores superiores que as amostras de casca de café com elevada quantidade de pergaminho (CS2 e CS2b). O que já era esperado, uma vez que as amostras de CS1 e CS1b apresentaram maior teor de FEs. Com esses resultados, é possível reforçar que o pergaminho do café contribui para diminuir o conteúdo fenólico extraível da casca de café. As amostras CS1 e CS1b não apresentaram diferença estatisticamente significativa e a amostra CS2 apresentou valor superior que a amostra CS2b, o que reforça que o branqueamento não teve efeito na conservação dos compostos fenólicos extraíveis das cascas analisadas.

Os resultados obtidos para as NEPAs mostram que as amostras branqueadas tiveram valores maiores do que as amostras não branqueadas, o que

indica que o branqueamento contribuiu para preservar a fração de proantocianidina que permanece aprisionada na matriz da casca. As amostras com maior quantidade de pergaminho (CS2 e CS2b) apresentaram valores inferiores que os das amostras com menor quantidade de pergaminho em relação às NEPAs, resultado semelhante ao obtido para as EPAs.

Tabela 9 – Teores de proantocianidinas extraíveis e não extraíveis em cascas de café.

Amostra	EPA (mg PA/100 g)	NEPA (mg PA/100 g)
CS1	3.157,022 ± 70,77 a	2.025,85 ± 55,68 a
CS1b	3.265,088 ± 69,51 a	2.703,33 ± 10,73 b
CS2	2.158,588 ± 48,70 b	1.837,77 ± 23,73 c
CS2b	1.990,817 ± 32,20 c	2.387,34 ± 32,88 d

Letras diferentes na mesma coluna indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Arranz *et al.* (2009) encontraram os seguintes valores de EPAs em maçã, pêssigo e nectarina, respectivamente: 5,3 mg/100 g, 22 mg/100 g e 8,56 mg/100 g. Já para as NEPAs, os valores encontrados foram 45,77 mg/100 g, 59,1 mg/100 g e 45,8 mg/100 g, respectivamente. No presente estudo, os resultados encontrados para as NEPAs não foram maiores que os encontrados para as EPAs, o que não está de acordo com o encontrado no estudo de Arranz *et al.* (2009). Esta divergência pode ser porque Arranz *et al.* (2009) utilizou o método de CLAE para quantificar as EPAs e o método utilizado no presente trabalho foi utilizando espectrofotômetro UV-Vis, que não é um método muito preciso, pois pode quantificar outros compostos além das proantocianidinas.

Os valores de NEPAs encontrados neste estudo foram superiores aos encontrados por Zurita *et al.* (2012) para maçã com casca (55 mg/100 g) e feijão cozido (591 mg/100 g); Arranz *et al.* (2009) para maçã (45,77 mg/100 g), pêssigo (59,1 mg/100 g) e nectarina (45,8 mg/100 g) e Pérez-Jiménez *et al.* (2009) para pêra com casca (183 mg/100 g), uva branca (529 mg/100 g), nectariana com casca (241 mg/100 g) e maçã com casca (259 mg/100 g). Porém, foram inferiores que os encontrados por Pérez-Jiménez *et al.* (2009) para bagaço de uva vermelha (9.870 mg/100 g) e casca de uva vermelha (24.168 mg/100 g).

Os resultados encontrados para as amostras CS1 e CS2 pra NEPAs foram bem próximos ao encontrado por Zurita *et al.* (2012) em banana (1.751 mg/100 g) e as amostras CS1b e CS2b tiveram resultados bem próximo ao encontrado por Zurita *et al.* (2012) em bagaço de uva (2.716 mg/100 g).

4.3. COMPOSTOS FENÓLICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Dentre os padrões disponíveis para realização da análise, foram identificados o ácido clorogênico e o ácido protocatecuico (APC) nas amostras. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 10.

Tabela 10 – Quantidade de ácido clorogênico e ácido protocatecuico em amostras de casca de café.

Amostra	Ácido clorogênico (mg/100 g)	Ácido protocatecuico (mg/100 g)
CS1	121,551 ± 0,178 a	28,235 ± 0,183 a
CS1b	174,265 ± 0,262 b	14,420 ± 0,014 b
CS2	17,190 ± 0,127 c	-
CS2b	43,086 ± 0,163 d	-

Letras diferentes na mesma coluna indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Os cromatogramas e os espectros obtidos para o ácido clorogênico nas amostras analisadas estão representados nas Figuras 27, 28, 29 e 30. As amostras branqueadas apresentaram valores superiores de ácido clorogênico em relação às amostras não branqueadas, o que indica que o ácido clorogênico pode ser estável a elevadas temperaturas. As amostras com maior quantidade de pergaminho apresentaram valores inferiores que as amostras com menor quantidade de pergaminho, o que já era esperado, uma vez que as amostras CS1 e CS1b apresentaram valores superiores de FEs que as amostras CS2 e CS2b.

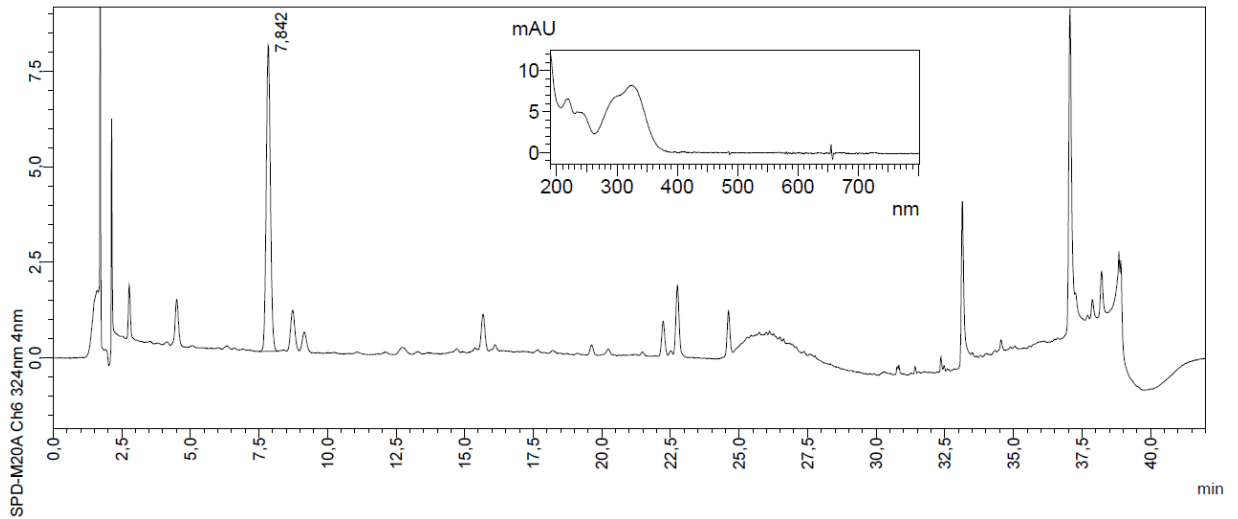


Figura 27 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS1.

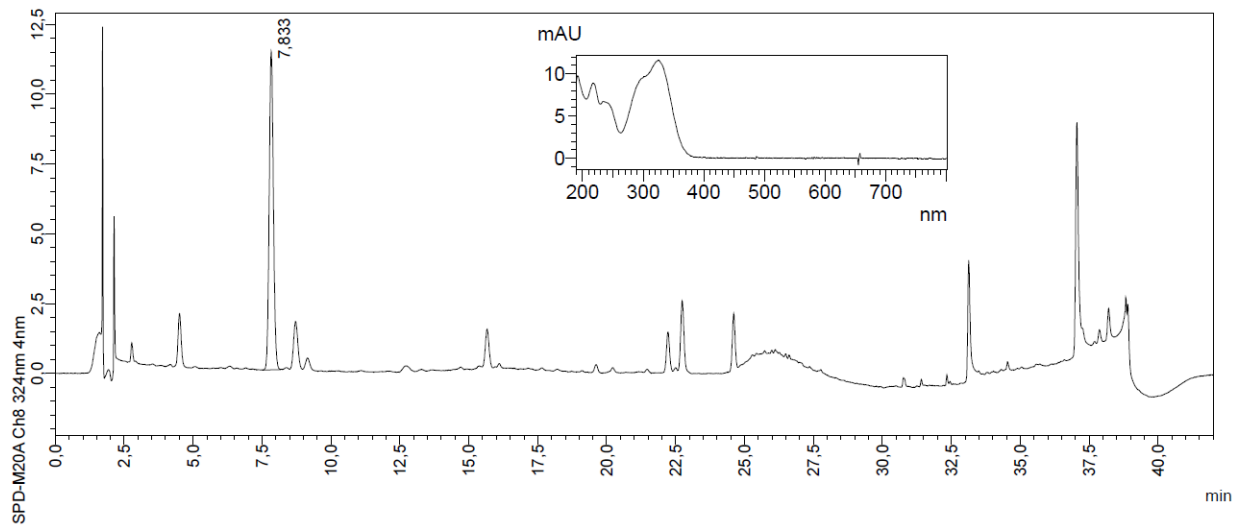


Figura 28 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS1b.

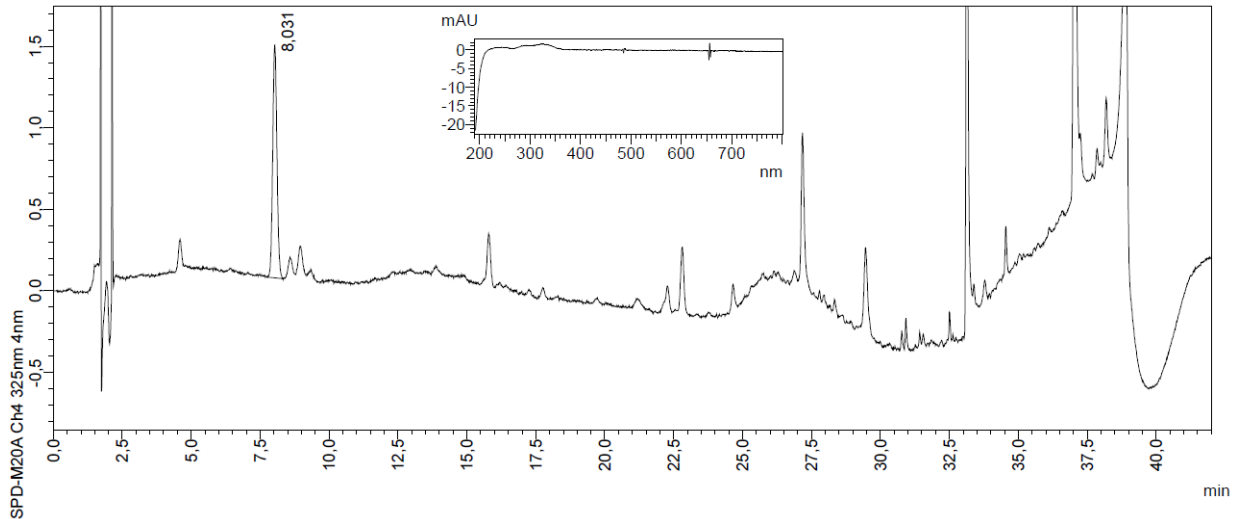


Figura 29 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS2.

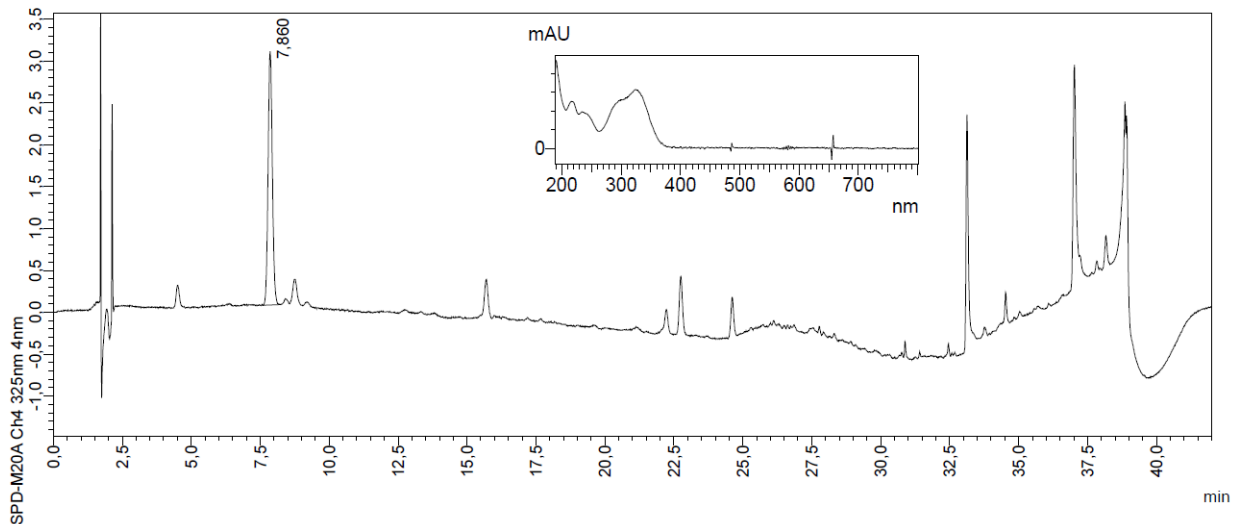


Figura 30 – Cromatograma e espectro do ácido clorogênico obtido na amostra CS2b.

Os valores de ácido clorogênico obtidos em todas as amostras foram superiores que os obtidos por Arranz *et al.* (2009) em maçã (6,22 mg/100 g), pêsego (10,24 mg/100 g) e nectarina (2,5 mg/100 g) e por Zhang *et al.* (2016) em goji (40,89 mg/100 g) e inferiores que o obtido por Belguidoum *et al.* (2014) em café cru da espécie robusta (2.815 mg/100 g). O valor obtido por Al-Dhabi *et al.* (2017) de ácido clorogênico em borra de café (143 mg/100 g) foi bem próximo ao obtido nas amostras CS1 e CS1b. Estes resultados mostram que cascas de café contêm elevada quantidade de ácido clorogênico em relação a outros vegetais e quantidades semelhantes à borra de café e que apesar das cascas de café terem

quantidades elevadas de ACG, a maior quantidade deste ácido está presente nas sementes de café.

Alimentos com quantidades significativas de ácido clorogênico são muito visados, uma vez que apresentam várias funções biológicas comprovadas. Estudos revelaram que os ácidos clorogênicos têm várias propriedades farmacológicas, tais como capacidade de aumentar a utilização da glicose hepática (JOHNSTON *et al.*, 2003), atividade antioxidante (CASTILHO *et al.*, 2002), atividade antiespasmódica (TRUTE *et al.*, 1997), inibição da integrase de HIV-1 (MCDOUGALL *et al.*, 1998) e inibição da mutagenicidade de compostos carcinogênicos (STICH *et al.*, 1982).

O ácido protocatecuico (APC) também tem atraído crescente interesse no mercado de alimentos saudáveis, devido as respectivas funções biológicas (XIE *et al.*, 2014). Estudos indicam que o APC apresenta várias atividades bioativas, como forte antioxidante (PALAFOX-CARLOS *et al.*, 2012), anti-cancerígeno (YIN *et al.*, 2009) e anti-inflamatório (CORNO *et al.*, 2014). Os cromatogramas e os espectros obtidos para o ácido protocatecuico nas amostras analisadas estão representados nas Figuras 31, 32, 33 e 34.

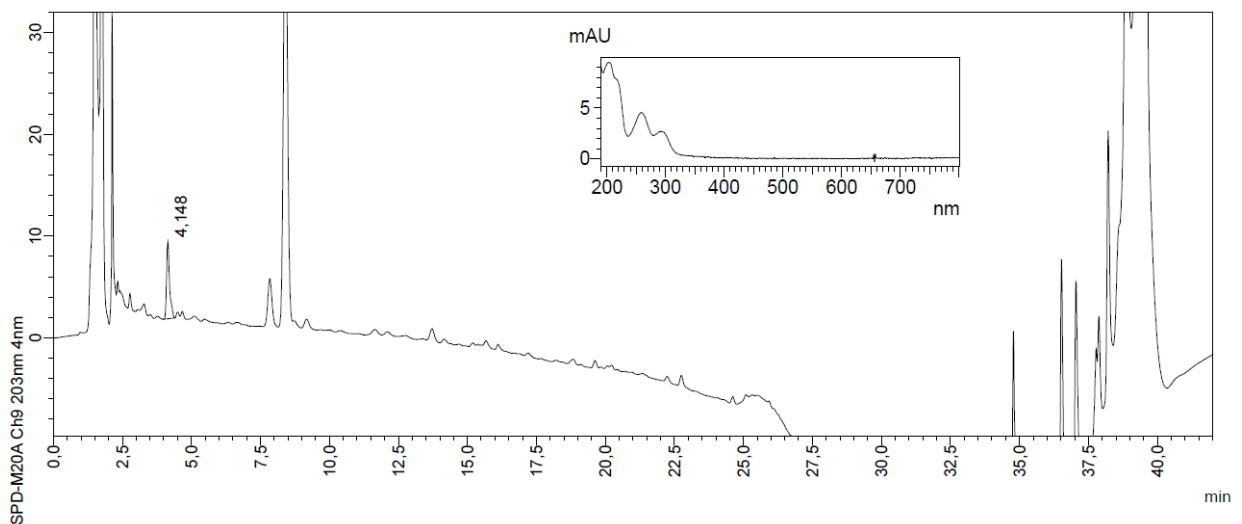


Figura 31 - Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS1.

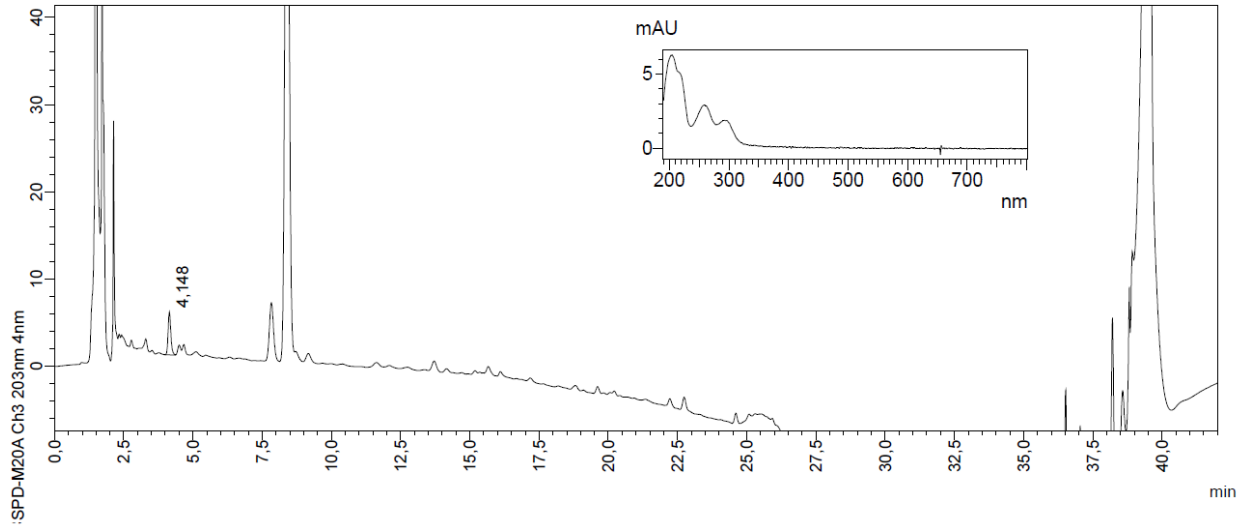


Figura 32 - Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS1b.

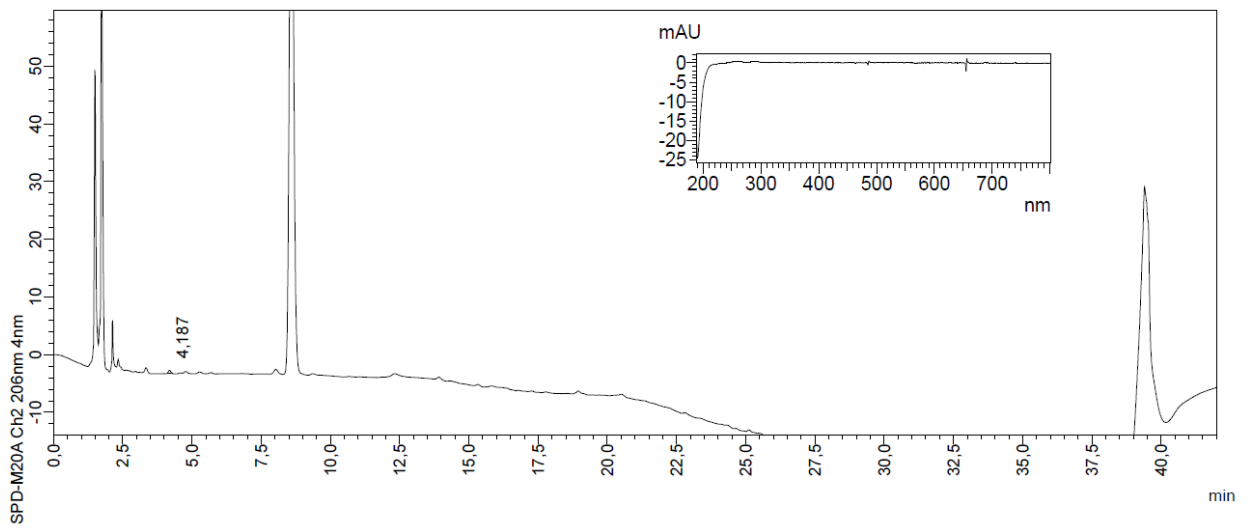


Figura 33- Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS2.

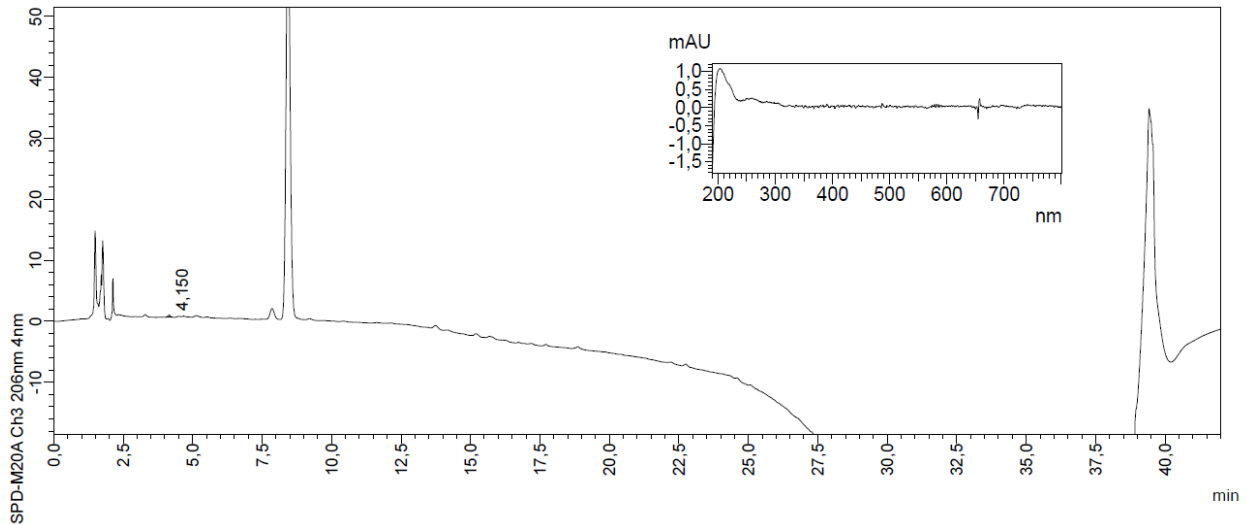


Figura 34 - Cromatograma e espectro do ácido protocatecuico obtido na amostra CS2b.

As amostras CS2 e CS2b não apresentaram valores de área significativo de APC para que fosse possível realizar os cálculos, porém, traços do mesmo foram identificados nestas amostras. Devido às baixas concentrações de APC nas amostras CS2 e CS2b, não foi possível identificar seus espectros, pois eles ficaram distorcidos. Xie *et al.* (2014) relataram que é difícil realizar análises qualitativas e quantitativas de APC em matrizes complexas, como alimentos, devido à baixa concentração destes (por exemplo, < 1 µg/mL em sucos de frutas) e a coeluição com algumas interferências polares na análise em CLAE.

A amostra CS1 apresentou valor superior de APC do que a amostra CS1b, o que indica que houve perdas de ácido protocatecuico no branqueamento. Isto pode ter ocorrido pelo fato do ácido protocatecuico ser pouco estável em altas temperaturas. A quantidade de APC nas amostras com menor quantidade de pergaminho foi superior às das amostras com maior quantidade de pergaminho, resultado semelhante ao do ácido clorogênico, o que, também, está coerente com os resultados obtidos para os FEs.

Os valores encontrados por Arranz *et al.* (2009) para APC em maçã (1,3 mg/100 g), pêssego (1,24 mg/100 g) e nectarina (1,4 mg/100 g) e por Butsat & Siriamrnpun (2010) em casca de arroz (< 1,4 mg/100 g) foram inferiores que os encontrados para as amostras CS1 e CS1b, porém, o valor encontrado por Al-Dhabi *et al.* (2017) em borra de café (53 mg/100 g) foi superior. Estes resultados indicam

que cascas de café contêm quantidades elevadas de ácido protocatecuico em relação a outros vegetais, porém, não é a fração do café que apresenta a maior quantidade.

4.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS POR CROMATOGRAFIA A GÁS

Uma das informações mais importantes para caracterizar a estrutura de um polissacarídeo é identificar seus monossacarídeos constituintes. Os resultados obtidos em porcentagens molares relativas (% mol) para os monossacarídeos das amostras analisadas estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Porcentagens molares relativas de monossacarídeos em cascas de café.

Monossacarídeo	CS1 (% mol)	CS1b (% mol)	CS2 (% mol)	CS2b (% mol)
Ramnose	3,04 ± 0,60 a	2,98 ± 0,52 a	2,66 ± 0,38 a	2,46 ± 0,58 a
Arabinose	25,24 ± 1,37 a	25,17 ± 1,26 a	17,91 ± 1,77 b	16,14 ± 1,77 b
Xilose	32,92 ± 1,46 a	23,69 ± 1,17 b	55,53 ± 1,89 c	53,66 ± 1,87 c
Manose	9,67 ± 0,90 a	10,00 ± 1,10 a	5,33 ± 0,96 b	4,47 ± 0,86 b
Galactose	11,91 ± 2,4 ab	13,69 ± 1,78 b	9,59 ± 2,32 a	10,52 ± 1,39 a
Glicose	15,84 ± 1,32 a	22,92 ± 1,28 b	8,68 ± 0,92 c	12,74 ± 1,23 d
Mio-Inositol	1,38 ± 0,12 a	1,54 ± 0,17 a	0,30 ± 0,04 b	0 d

Letras diferentes na mesma linha indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Sete monossacarídeos foram detectados nas amostras avaliadas, sendo eles: ramnose, arabinose, xilose, manose, galactose, glicose e mio-inositol. Todos os monossacarídeos, exceto a xilose, estão presentes em maior quantidade nas amostras com maior quantidade de pele externa (casca) do que de pergaminho. As amostras branqueadas e não branqueadas tiveram pequenas variações das porcentagens dos monossacarídeos, sendo que a glicose apresentou variação mais expressiva. O branqueamento contribuiu para aumentar a porcentagem molar relativa da glicose nas amostras.

Nas Figuras 35, 36, 37 e 38, são apresentados os cromatogramas obtidos para cada amostra. A alose corresponde ao padrão interno, utilizado para realização dos cálculos.

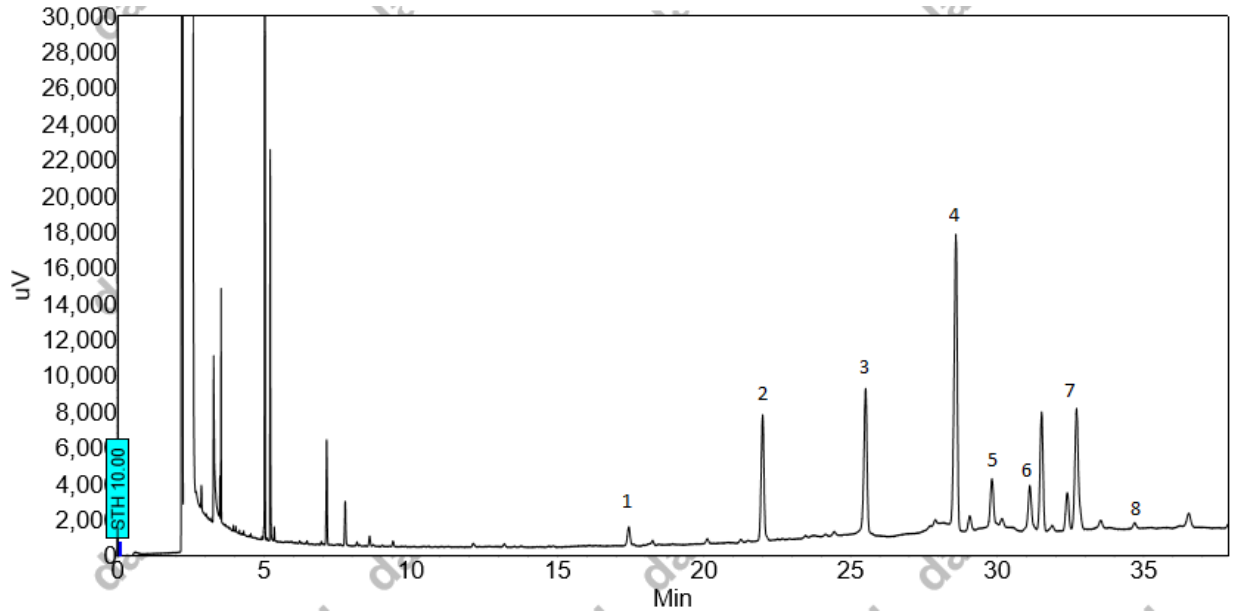


Figura 35 – Monossacarídeos presentes na amostra CS1 (1-Ramnose, 2-Arabinose, 3-Xilose, 4-Alose-padrão interno, 5-Manose, 6-Galactose, 7-Glicose, 8-Mio-Inositol).

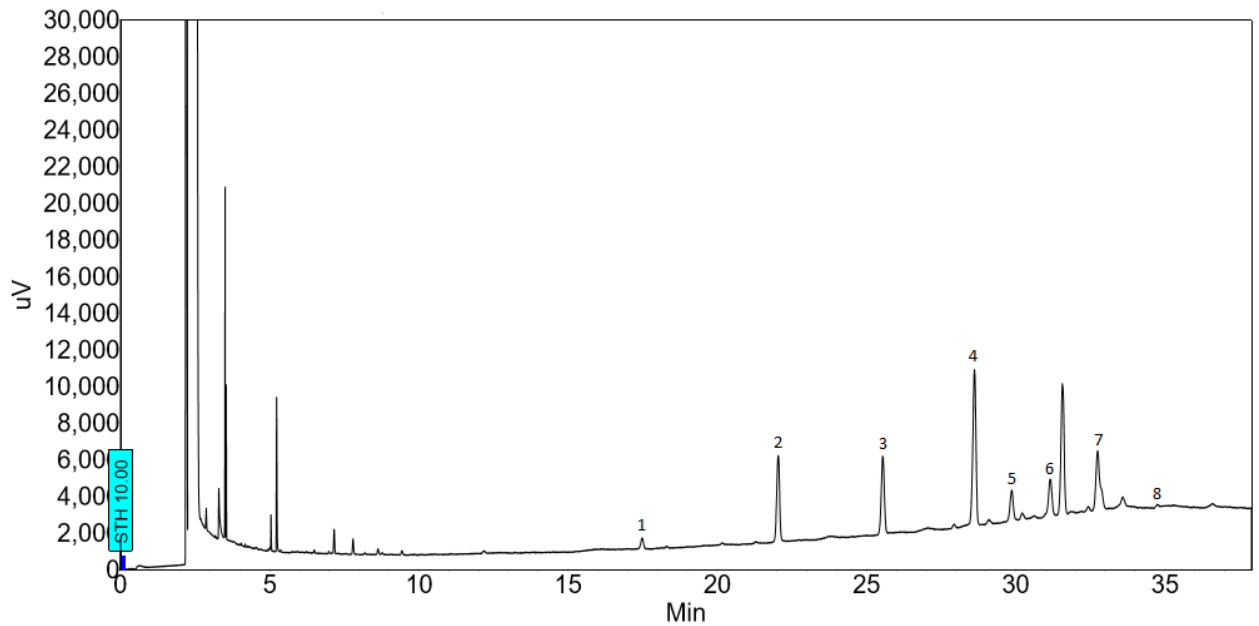


Figura 36 – Monossacarídeos presentes na amostra CS1b (1-Ramnose, 2-Arabinose, 3-Xilose, 4-Alose-padrão interno, 5-Manose, 6-Galactose, 7-Glicose, 8-Mio-Inositol).

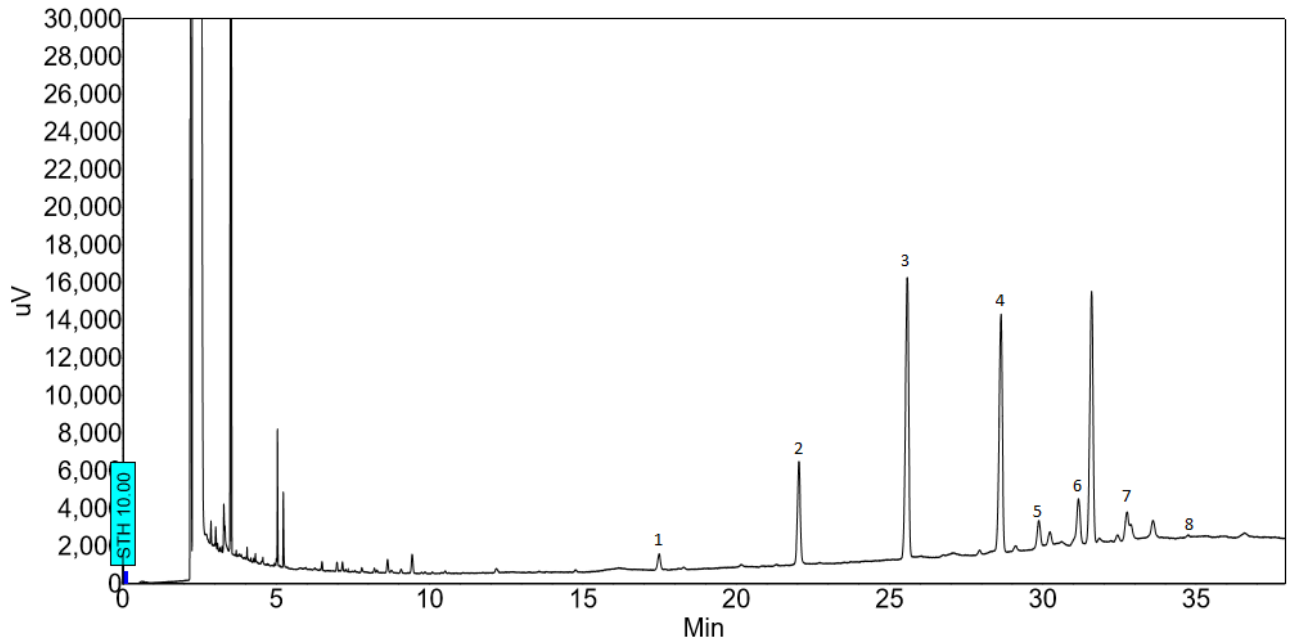


Figura 37 – Monossacarídeos presentes na amostra CS2 (1-Ramnose, 2-Arabinose, 3-Xilose, 4-alose-padrão interno, 5-Manose, 6- Galactose, 7-Glicose, 8-Mio-Inositol).

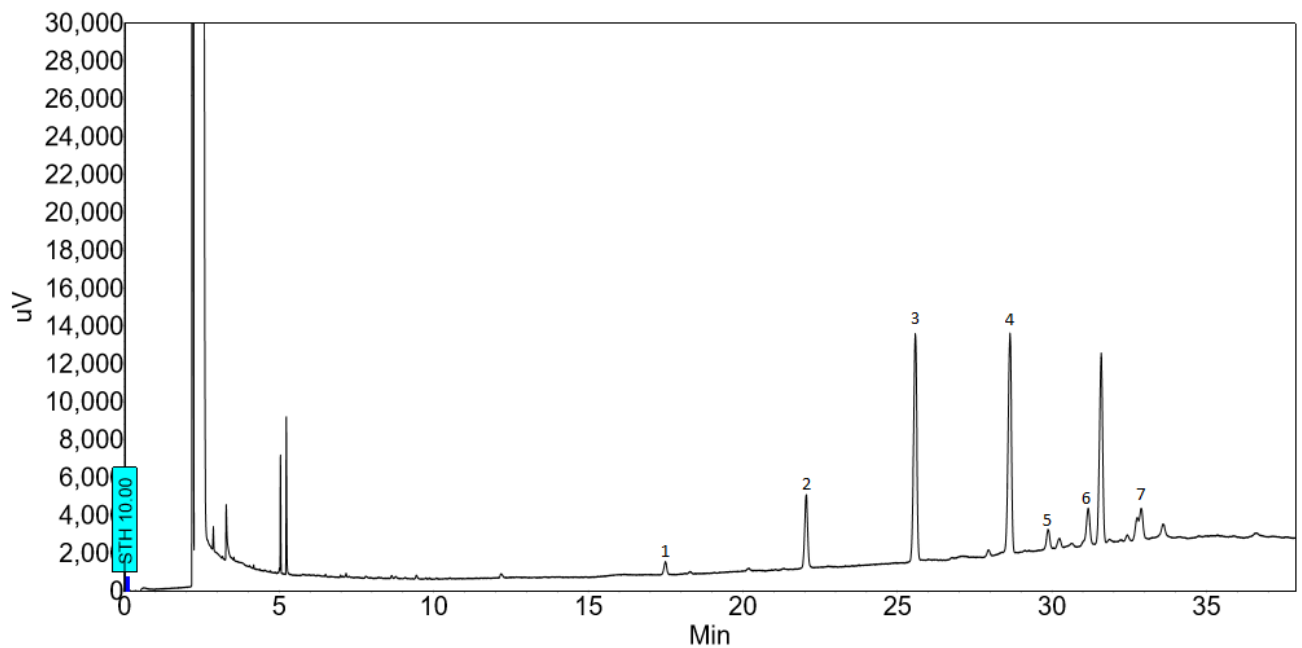


Figura 38 – Monossacarídeos presentes na amostra CS2b (1-Ramnose, 2-Arabinose, 3-Xilose, 4-alose-padrão interno, 5-Manose, 6-Galactose, 7-Glicose, 8-Mio-Inositol).

Todas as amostras apresentaram elevadas porcentagens de xilose, o que indica a presença de xilanas e xiloglucanas em cascas de café. A presença de xilose

em casca de café está de acordo com Nogueira & Lago (2009), que utilizaram a presença de xilose para identificar cafés torrados e moídos adulterados com cascas de café, uma vez que as amostras adulteradas com cascas de café apresentavam xilose na sua composição, diferente das amostras sem a presença de casca.

Quantidades de glicose e galactose encontradas podem estar presentes na estrutura das xiloglucanas. Como as amostras com maior quantidade de pergaminho (CS2 e CS2b) apresentaram maior quantidade de xilose e menor quantidade de glicose, pode-se dizer que estas contêm mais xilanas (apenas unidades de xilose) e menos xiloglucanas que as amostras com menor quantidade de pergaminho (CS1 e CS1b).

As amostras apresentaram traços de mio-inositol, sendo que as amostras CS1 e CS1b tiveram valores significativamente superiores que as amostras CS2 e CS2b. Este monossacarídeo é um isômero da glicose, sendo abundante em cereais e frutas e pobres em alimentos de origem animal (RUIZ-ACEITUNO *et al.*, 2014). Estudos têm mostrado que o mio-inositol apresenta atividades bioativas, como redução dos índices de diabetes gestacional (CELENTANO *et al.*, 2016) e tratamento de depressão, TOC (transtorno obsessivo compulsivo) e síndrome do pânico (HARVEY *et al.*, 2002).

Masuda *et al.* (2003) encontraram teores variando de 0,6-2,1 % de mio-inositol em polpa fresca de diversas frutas (limão, tangerina, laranja e uva). Os resultados encontrados para as amostras CS1 e CS1b são similares aos encontrados por Masuda *et al.* (2003), porém, os resultados para as amostras CS2 e CS2b foram inferiores. Estes resultados indicam que o mio-inositol está presente nos vegetais em proporções menores do que outros monossacarídeos.

A presença de arabinose, galactose e manose pode indicar a presença de galactomananas e arabinogalactanas nas amostras analisadas, sendo que as amostras CS1 e CS1b apresentaram quantidades superiores, podendo dizer, que a pele externa (casca) do café contêm maior quantidade destes polissacarídeos do que o pergaminho do café. Estudos mostram a possibilidade de que existam outros resíduos de açúcares na estrutura primária das moléculas de galactomananas (por exemplo, glicose e arabinose) e arabinogalactanas (ramnose) (SIMÕES *et al.*, 2014).

Passos & Coimbra (2013) encontraram os monossacarídeos arabinose (6 % mol), manose (45 % mol), galactose (25 % mol) e glicose (24 % mol) em borras de café submetidas a extração com água superaquecida. Ballesteros *et al.* (2015) encontraram arabinose (19,93 % mol), manose (4,43 % mol), galactose (60,27 % mol) e glicose (15,37 % mol) em borras de café. A ausência de xilose nas borras confirma que a xilose está presente apenas nas cascas de café.

4.5. OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE TRIGONELINA

Os resultados obtidos para cada tratamento estão apresentados na Tabela 12. O diagrama de pareto dos efeitos padronizados (Figura 39) mostra que o número de extrações tem influência significativa na extração de trigonelina em cascas de café. Já o tempo de extração e os dois fatores juntos não apresentaram influência significativa. Pelo teste de Tukey, os tratamentos com 1 extração apresentaram valores menores que os tratamentos com 2 e 3, sendo que estes não apresentaram diferença significativa entre eles. Nenhum dos tratamentos apresentou diferença significativa de acordo com o tempo de extração pelo teste de Tukey. Pelos resultados obtidos pelo diagrama de pareto e pelo teste de Tukey, pode-se dizer que o melhor tratamento é o que envolve 2 extrações com 5 minutos cada, uma vez que o tempo não teve interferência e os tratamentos com 2 e 3 extrações apresentaram valores semelhantes estatisticamente.

Tabela 12 – Quantidade de trigonelina em casca de café para diversos tratamentos de extração.

Tratamento	Trigonelina mg/100 g
1	538,217 ± 6,5 b
2	513,300 ± 6,4 b
3	519,983 ± 5,9 b
4	547,717 ± 6,2 b
5	433,808 ± 4,9 a
6	457,923 ± 5,2 a
7	538,325 ± 6,3 b

Letras diferentes na mesma coluna indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

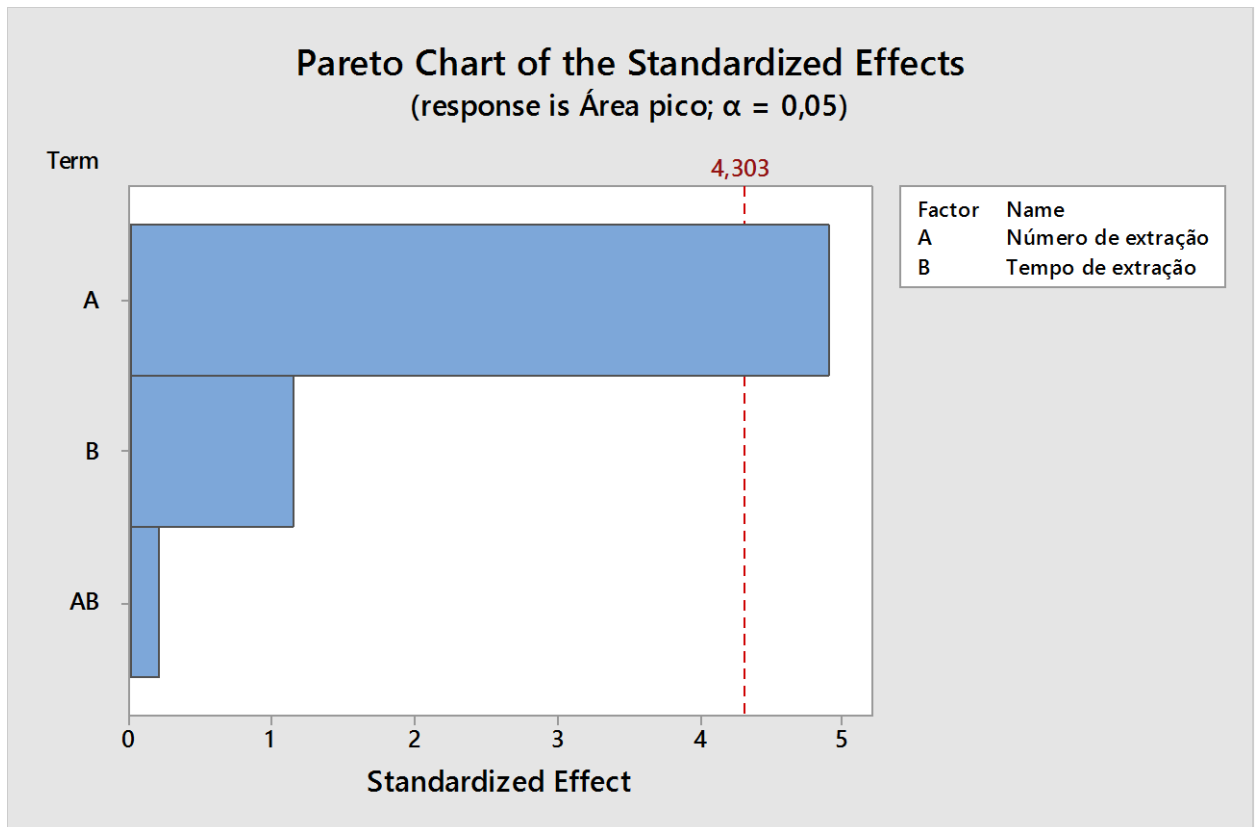


Figura 39 – Diagrama de pareto dos efeitos padronizados de tratamentos para extração de trigonelina com 2 fatores.

4.6 CAFEÍNA E TRIGONELINA POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Os resultados obtidos para determinação de cafeína nas amostras estão apresentados na Tabela 13 e os cromatogramas nas Figuras 40, 41, 42 e 43.

Tabela 13 – Quantidade de cafeína em amostras de casca de café

Amostra	Cafeína (mg/100 g)
CS1	618,10 ± 6,66 a
CS1b	522,09 ± 0,62 b
CS2	696,22 ± 4,86 c
CS2b	418,13 ± 0,65 d

Letras diferentes na mesma coluna indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

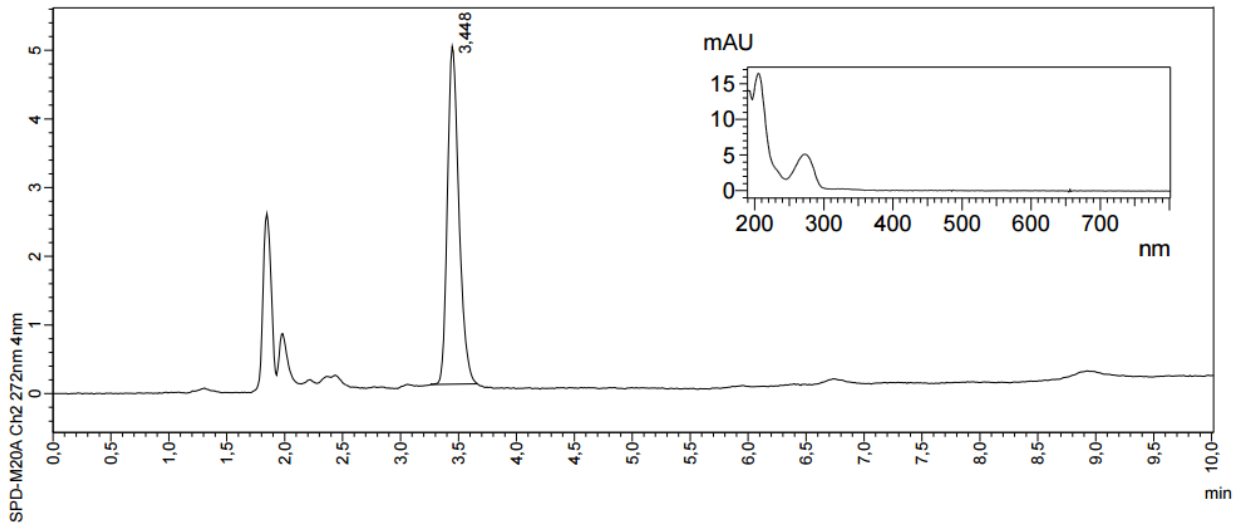


Figura 40 – Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS1.

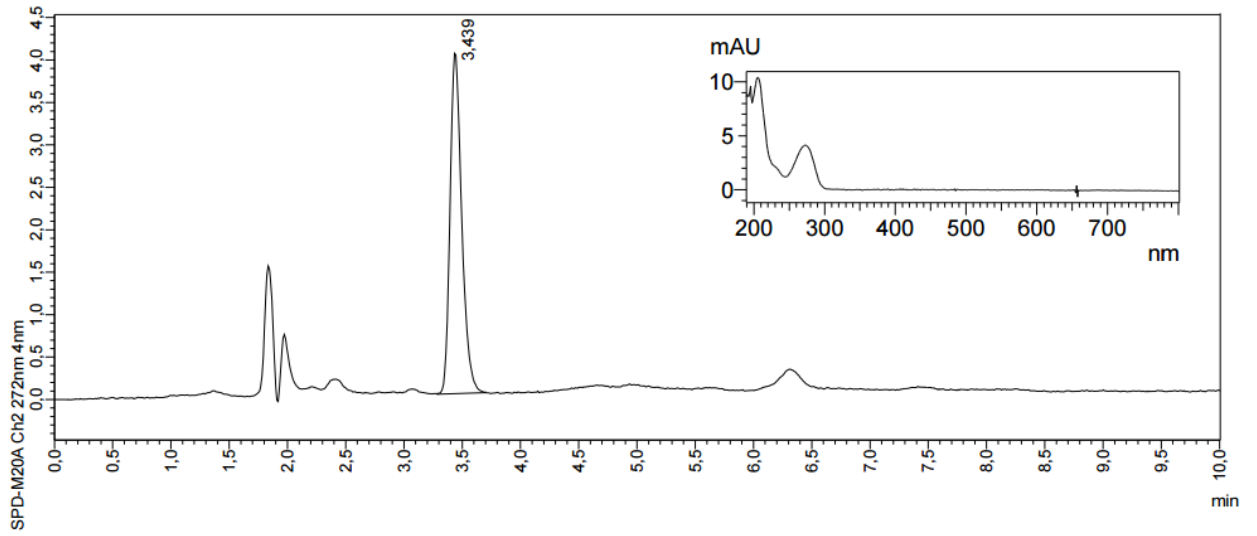


Figura 41 - Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS1b.

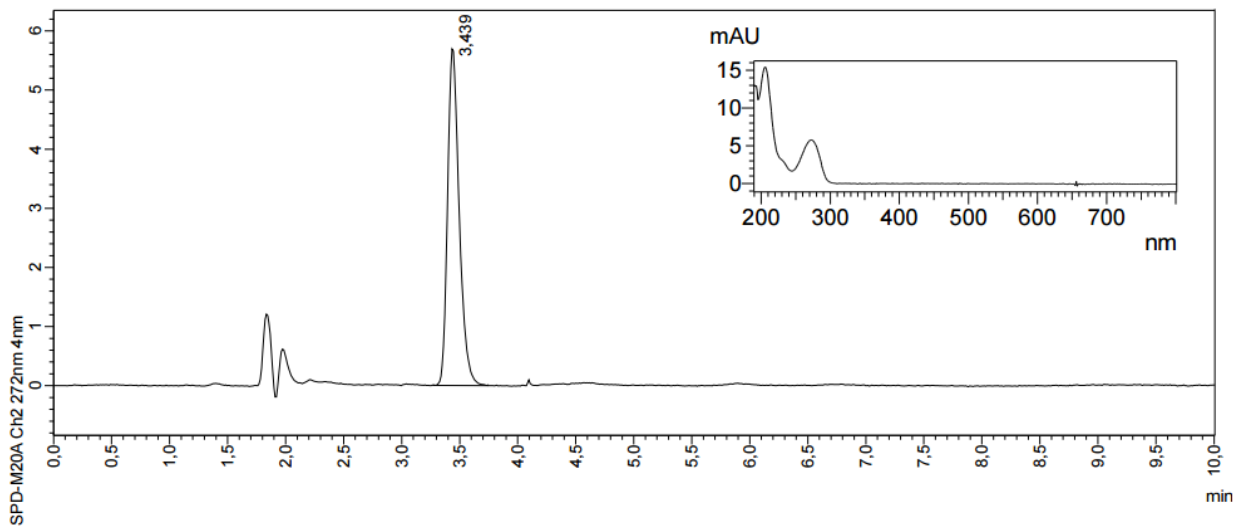


Figura 42 - Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS2.

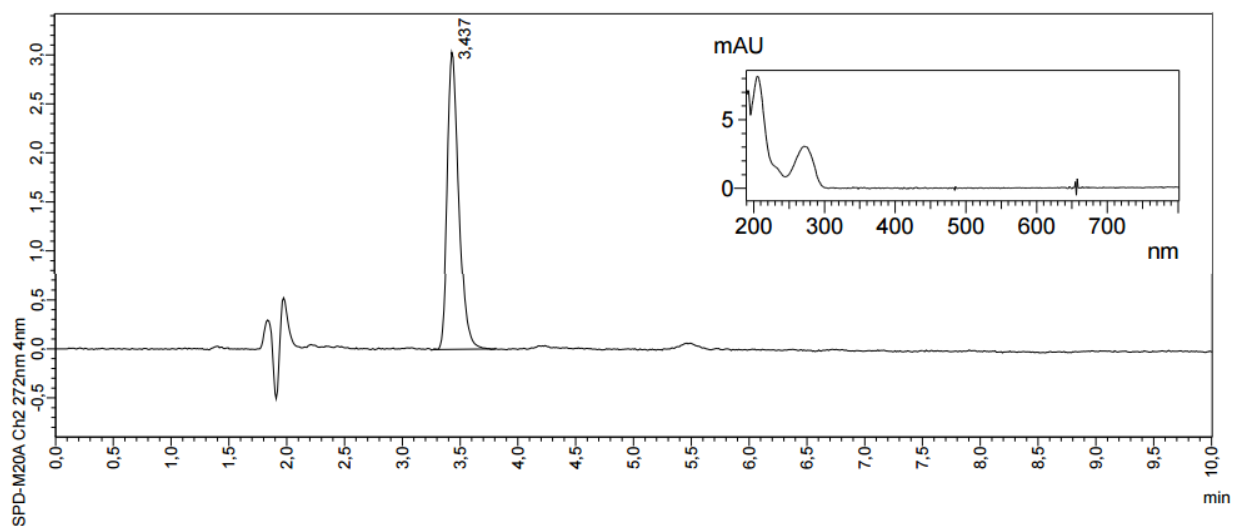


Figura 43 - Cromatograma e espectro de cafeína obtido na amostra CS2b.

As amostras branqueadas apresentaram valores inferiores de cafeína do que as amostras não branqueadas, o que pode ser justificado pelo fato da cafeína ser muito solúvel em água, resultando, portanto, em perdas durante o branqueamento. O branqueamento é feito com água em temperatura elevada, semelhante com o método de extração da cafeína, diferindo em relação ao tempo exposto a água quente. A exposição à água quente no branqueamento durou um minuto, mesmo assim foi possível que ocorresse uma perda significativa de cafeína.

A amostra com maior quantidade de pergaminho sem o branqueamento apresentou valor superior do que a amostra com pequenas quantidades de

pergaminho sem o branqueamento, o que indica que o pergaminho do café contém mais cafeína do que a pele externa (casca) do café. Porém nas amostras branqueadas ocorreu o inverso, o que pode ter ocorrido devido há uma maior ou menor perda de cafeína em alguma das amostras durante o branqueamento.

Perrone *et al.* (2008) encontraram o valor de 919 mg/100 g de cafeína em café cru da espécie arábica e o valor de 1.701,3 mg/100 g em café verde da espécie robusta, o que indica que cascas de café da espécie robusta vão ter quantidades superiores de cafeína do que as encontradas neste estudo (espécie arábica). O valor encontrado por Perrone *et al.* (2008) foi superior do que os valores encontrados neste estudo, porém ele analisou o grão de café inteiro e de acordo com CAMPOS-VEGA *et al.* (2015), o teor de cafeína nos resíduos de café é menor do que nos grãos de café, portanto, os valores encontrados neste estudo estão coerentes.

Salinas-Vargas & Cañizares-Macías (2014) analisaram o teor de cafeína em 8 amostras de café cru, obtendo valores variando de 400,00 a 933,00 mg/100 g. Em relação aos resultados obtidos neste estudo e aos obtidos por Salinas-Vargas & Cañizares-Macías (2014) e Perrone *et al.* (2008), pode-se dizer que mais da metade da quantidade de cafeína do café fica no resíduo do processamento a seco dos grãos (cascas de café), que é inutilizado atualmente.

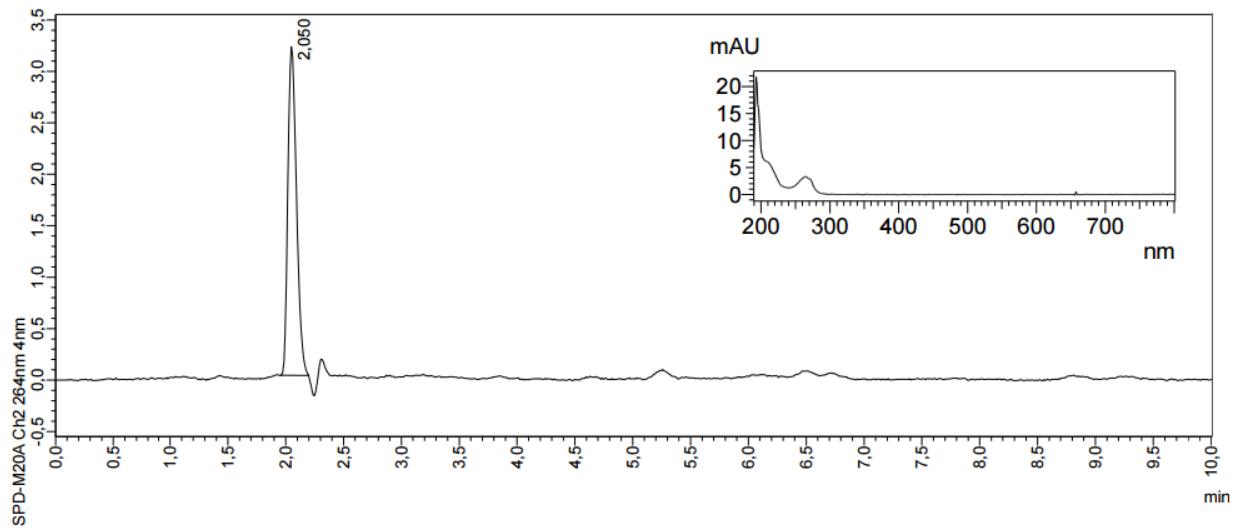
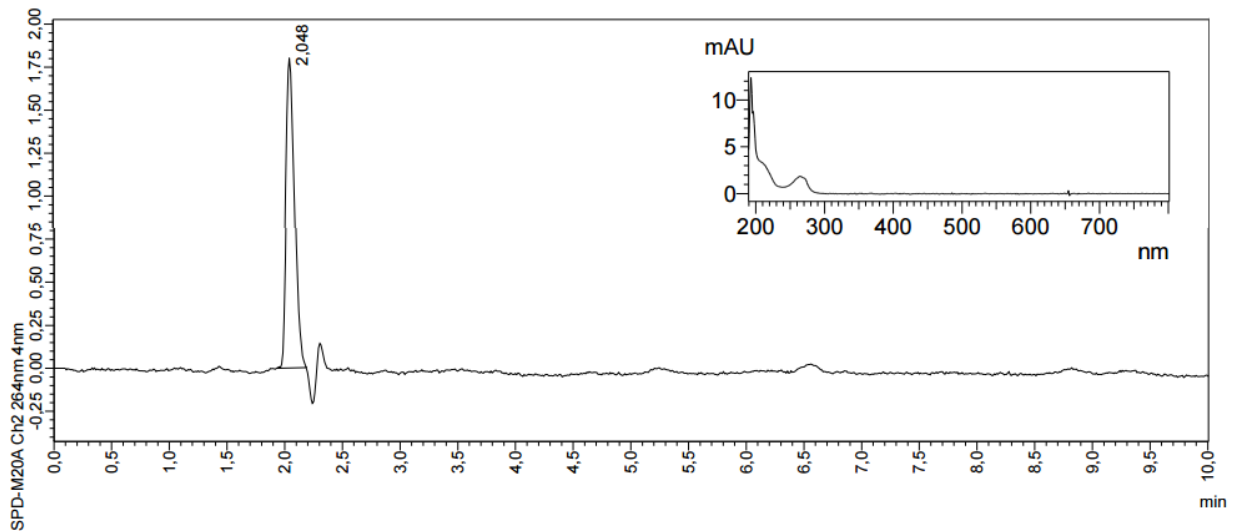
O teor de cafeína foi analisado por Bae *et al.* (2015) em chá mate (1.130 mg/100 g), chá preto (2.009 mg/100 g) e chá verde (2.050 mg/100 g) e por Arai *et al.* (2015) em amostras de café instantâneo (\pm 3.200 mg/100 g). A quantidade de cafeína em café instantâneo foi expressivamente superior que a das amostras de chás, o que mostra o grande potencial do café como fonte alimentar de cafeína.

Os resultados obtidos para trigonelina nas amostras estão apresentados na Tabela 14 e os cromatogramas e espectros nas Figuras 44, 45, 46 e 47.

Tabela 14 – Quantidade de trigonelina em amostras de casca de café.

Amostra	Trigonelina (mg/100 g)
CS1	542,80 ± 6,54 a
CS1b	285,58 ± 4,83 b
CS2	246,21 ± 2,56 c
CS2b	20,16 ± 0,20 d

Letras diferentes na mesma coluna indica diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

**Figura 44** - Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS1.**Figura 45** - Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS1b.

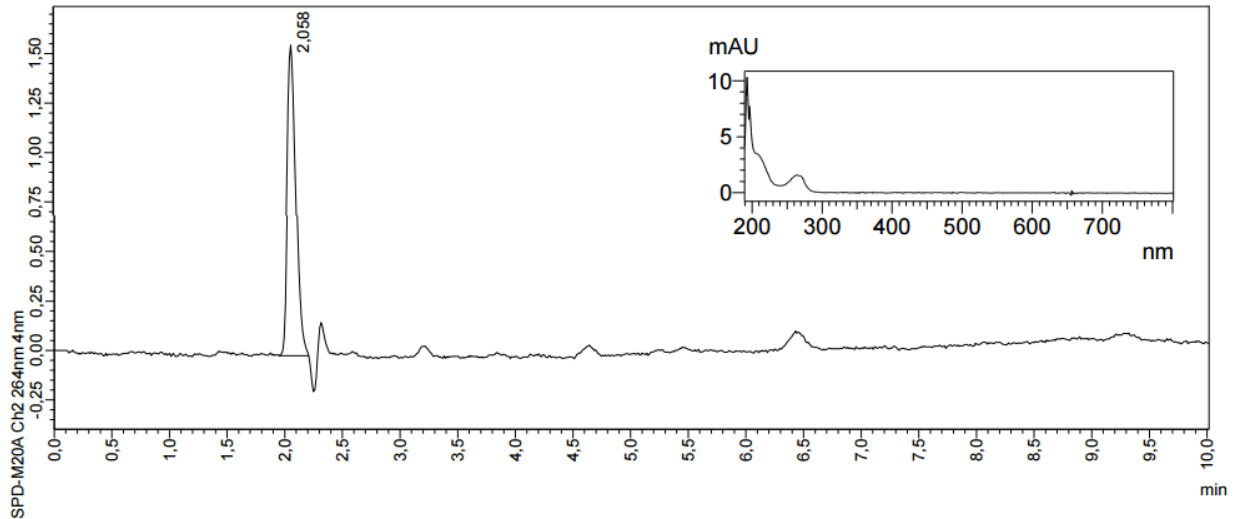


Figura 46 - Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS2.

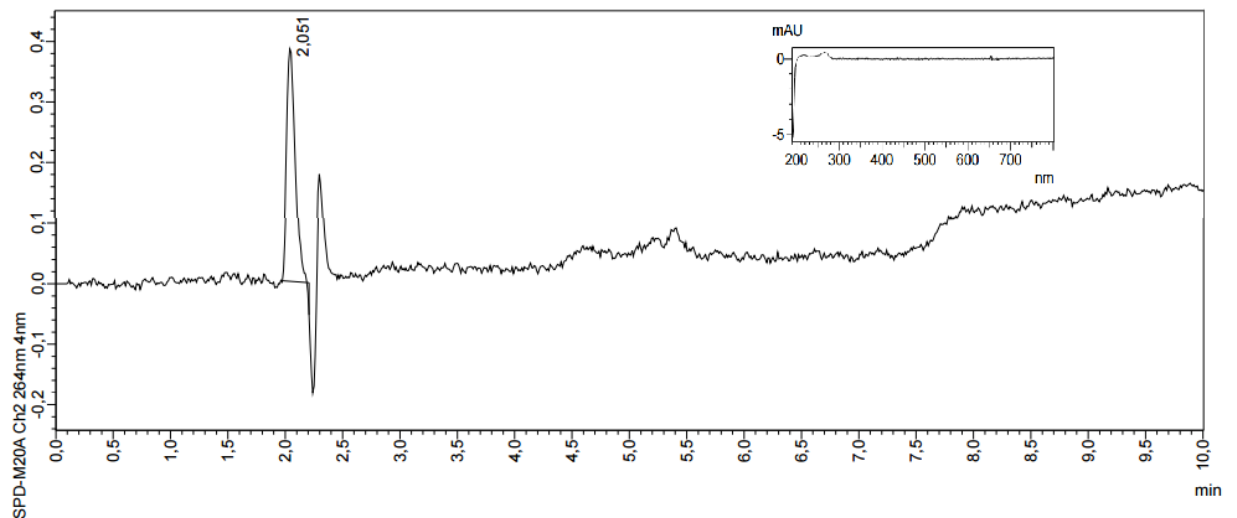


Figura 47 - Cromatograma e espectro de trigonelina obtido na amostra CS2b.

A quantidade de trigonelina encontrada nas amostras majoritariamente por pele externa (casca) foi superior do que nas amostras compostas majoritariamente por pergaminho, mostrando, portanto, que ao contrário da cafeína, a trigonelina está presente em menor quantidade no pergaminho do café do que na pele externa (casca) do café. As amostras branqueadas apresentaram valores inferiores do que as amostras não branqueadas, o que mostra que o branqueamento também contribuiu para perdas de trigonelina em cascas de café. A perda de trigonelina pelo branqueamento foi expressivamente maior do que a perda de cafeína, mostrando que a extração de trigonelina com água quente ocorre mais facilmente.

O espectro da trigonelina na amostra CS2b ficou diferente dos das demais amostras, o que pode ter ocorrido devido ao fato da quantidade de trigonelina na amostra ter sido quase nula, desta forma, o pico da trigonelina saiu muito próximo aos ruídos da fase móvel.

Perrone *et al.* (2008) encontraram os valores de 1.029,9 mg/100 g e 900,6 mg/100 g de trigonelina em café cru das espécies arábica e robusta, respectivamente. Com estes resultados, pode-se dizer que valores de trigonelina em cascas de café da espécie robusta tendem a serem menores que os encontrados neste estudo.

Matsui *et al.* (2007) encontraram os valores de trigonelina de 1.010 mg/100 g, 910 mg/100 g e 210 mg/100 g em amostras de trevo (*Trifolium incarnatum*), café (*C. arábica*) e alfafa (*Medicago sativa*), respectivamente. Estes resultados mostram o potencial do café como fonte de trigonelina. As cascas de café analisadas neste estudo, exceto a amostras CS2b, apresentaram valores superiores que o valor encontrado por Matsui *et al.* (2007) em alfafa e em algumas amostras de café instantâneo (302 – 976 mg/100 g) encontradas por Arai *et al.* (2015).

Com os resultados obtidos neste estudo e com os obtidos por Perrone *et al.* (2008) e por Matsui *et al.* (2007), pode-se dizer que quantidades significativas de trigonelina ficam nos resíduos obtidos no processamento a seco dos grãos de café (cascas de café), sendo, portanto, mais uma forma de agregar valor a estes resíduos que não possuem valor econômico atualmente.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este estudo mostra que cascas de café contêm elevados teores de compostos fenólicos, sendo que o pergaminho do café contém quantidade inferior à da pele externa (casca) do café. O branqueamento contribuiu para preservar os fenólicos não extraíveis nas cascas de café, porém, acarretou perdas de fenólicos extraíveis.

Foram identificados nas amostras analisadas ácido clorogênico e ácido protocatecuico, sendo que o ácido clorogênico apresentou-se em quantidades superiores às de ácido protocatecuico. Amostras com maior quantidade de pergaminho apresentaram valores inferiores desses ácidos que as amostras com maior quantidade de pele externa (casca). O branqueamento ocasionou perdas de ácido protocatecuico e preservou o ácido clorogênico. As amostras tiveram valores superiores destes ácidos que valores encontrados na literatura para diversos vegetais. A presença destes ácidos nos alimentos é importante, pois eles têm atividades biológicas comprovadas, como anti-cancerígena e antioxidante, dentre outras.

A composição química dos polissacarídeos indicou a presença de xilanas, xiloglucanas, galactomananas e arabinogalactanas nas amostras. Foi identificada, também, a presença de mio-inositol nas amostras, o que tem grande importância, pois este monossacarídeo tem relação com o tratamento de doenças psiquiátricas e redução dos índices de diabetes gestacional.

Os resultados para cafeína e trigonelina indicam que as cascas de café contêm quantidades significativas destes compostos presentes nos frutos de café. O branqueamento ocasionou perdas de cafeína e trigonelina nas amostras e aquelas com maior quantidade de pergaminho contêm quantidade superior de cafeína e inferior de trigonelina.

Com a realização deste trabalho, é possível concluir que cascas de café são fontes importantes de compostos bioativos, tendo, portanto, um elevado valor agregado. É importante que estudos *in vivo* sejam feitos para que o mecanismo de

ação desses compostos bioativos seja esclarecido. Sugere-se, também, que estudos *in vivo* e *in vitro* de toxicidade sejam feitos com cascas de café.

REFERÊNCIAS

- ABIC, Associação Brasileira da Indústria de Café, 2015. Disponível em: <[HTTP://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61#prodanual2014](http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61#prodanual2014)>. Acesso em: 08 dez. 2015.
- AJILA, C. M.; AALAMI, M.; LEELAVATHI, K.; PRASADA RAO, U. J. S. Mango peel powder: A potencial source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, p. 219-224, 2010.
- AKKARACHITASIT, S.; SIRICHAI, A.; SUMRIT, W. S. Y. Amylase inhibitory activity and anti hyperglycemic effect of cyanidin and its derivatives. **The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, p. 45-49, 2010.
- ALBISHI, T.; JOHN, J. A.; AL-KHALIFA, A. S.; SHAHIDI, F. Phenolic content and antioxidant activities of selected potato varieties and their processing by-products, **Journal Functional Foods**, v. 5, p. 590-600, 2013.
- ALCHEIKHHAMDON, A. A.; DARWISH, N. A.; HILAL, N. The use of factorial design in the analysis of air-gap membrane distillation data. **Desalination**, v. 367, n. 1, p. 90-102, 2015.
- AL-DHABI, N. A.; PONMURUGAN, K.; JEGANATHAN, P. M. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 34, p. 206-213, 2017.
- ANTUNES, P. B. **Análise comparativa das frações polpa, casca, semente e pó comercial do guaraná (*Paullinia cupana*):** caracterização química e atividade antioxidante *in vitro*. 2011. 114 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- ARAI, K.; TERASHIMA, H.; AIZAWA, S.; TAGA, A.; ATSUSHI, Y.; TSUTSUMIUCHI, S. K. Simultaneous determination of trigonelline, caffeine, chlorogenic acid and their related compounds in instant coffee samples by HPLC using an acidic mobile phase containing octanesulfonate. **Analytical Sciences**, v. 31, n. 8, p. 831-835, 2015.
- ARRANZ, S.; SAURA-CALIXTO, F. D.; SHARA, S.; KROON, P. High contents of nonextractable polyphenols in fruits suggest that polyphenol contents of plant food have been underestimated. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 7298-7303, 2009.
- ARRANZ, S.; SAURA-CALIXTO, F. Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet. **Journal Cereal Science**, v. 51, p. 133-318, 2010.
- ASHIHARA, H. Plant biochemistry trigonelline biosynthesis in *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. In: PREEDY, V. R. **Coffe in health and disease prevention**. Elsevier, 2015.
- AZIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N. M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.

BAE, I. K.; HAM, H. M.; JEONG, M. H.; KIM, D. H.; KIM, H. J. Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process. **Food Chemistry**, v. 172, p. 469-475, 2015.

BAGGIO, J. **Avaliação dos resíduos (casca e pó orgânico) de café (*Coffea arabica* L.) como provável fonte de substâncias bioativas**. 2006. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

BALLESTEROS, L. F.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATO, S. I. Selection of the Solvent and Extraction Conditions for Maximum Recovery of Antioxidant Phenolic Compounds from Coffee Silverskin. **Food Bioprocess Technology**, v. 7, p. 1322-1332, 2014.

BALLESTEROS, L. F.; CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATO, S. I. Characterization of polysaccharides extracted from spent coffee grounds by alkali pretreatment. **Carbohydrate polymers**, v. 127, p. 347-354, 2015.

BATTESTIN, V.; MACEDO, G. A. Tannase production by *Paecilomyces variotti*. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 9, p. 1832-1837, 2007.

BEKALO, S. A.; REINHARDT, H. Fibers of coffee husk and hulls for the production of particleboard. **Materials and Structures**, v. 43, n. 8, p. 1049-1060, 2010.

BELGUIDOUM, K.; AMIRA-GUEBAILIA, H.; BOULMOKH, Y.; HOUACHE, O. HPLC coupled to UV-Vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, p. 1314-1320, 2014.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry: Coffee, Tea, Cocoa**, 4. ed. Berlin: Springer, 2009. 1070 p.

BONILLA-HERMOSA, V. A.; DUARTE, W. F.; SCHWAN, R. F. Utilization of coffee by-products obtained from semi-washed process for production of value-added compounds. **Bioresource Technology**, v.166, p. 142–150, 2014.

BRAND, D.; PANDEY, A.; RODRÍGUEZ-LEÓN, J. A.; ROUSSOS, S.; BRAND, I.; SOCCOL, C. R. Packed bed column fermenter and kinetic modeling for upgrading the nutritional quality of coffee husk in solid-state fermentation. **Biotechnology Progress**, v. 17, p. 1065–1070, 2001.

BRAVO, L.; ABIA, R.; SAURA-CALIXTO, F. Polyphenols dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 7, p.1481-1487, 1994.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BUTSAT, S.; SIRIAMARNPU, S. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai Rice. **Food Chemistry**, v. 119, p. 606-613, 2010.

CALVERT, C. K. **The treatment of coffee processing waste waters: the biogas option – A review and preliminary report.** Coffee Industry Corporation Ltd, Coffee Research Institute, Papua New Guinea, 1997.

CAMPOS-VEGA, R.; LOARCA-PIÑA, G.; VERGARA-CASTAÑEDA, H. A.; OOMAH, B. D. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, p. 24-36, 2015.

CASTILHO, M. D.; AMES, J. M.; GORDON, M. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 3698-3703, 2002.

CELENTANO, C.; MATARRELLI, B.; MATTEI, P.; PAVONE, G.; VITACOLONNA, E.; LIBERATI, M. Myo-Inositol Supplementation to Prevent Gestational Diabetes Mellitus. **Current diabetes reports**, v. 16, n. 3, p. 1-7, 2016.

CHANTARO, P.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1987-1994, 2008.

CLARKE, R. J. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L. C.; FINGLAS, P. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.** Academic Press: London, England, 2003, vol. 3, p. 1486.

CLARKE, Z. E.; ANDERSON, R. L.; STONE, B. A. Form and function of arabinogalactan and arabinogalactan-proteins. **Phytochemistry**, v. 18, p. 521-540, 1979.

CORNO, M. D.; VARANO, B.; SCAZZOCCHIO, B.; FILESI, C.; MASELLA, R.; GESSANI, S. Protocatechuic acid inhibits human dendritic cell functional activation: role of PPAR γ up-modulation. **Immunobiology**, v. 219, p. 416-424, 2014.

CUI, S. W. **Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications.** Boca Raton: Taylor & Francis, 2005. 418 p.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p.33-40, 2004.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius*. **Ciência agrotecnica**, v. 29, p. 617-622, 2005.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DUTRA, F. L. G.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determinação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência isocrática durante estacionamento da erva-mate. **Química Nova**, v. 33, n. 1, 2010.

ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, p. 488-495, 2012.

FAN, J.; FOSSELLA, J.; SOMMER, T.; WU, Y.; POSNER, M. I. Mapping the genetic variation of executive attention to brain activity. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 12, p. 7406-7411, 2003.

FERRAZ, V. P. **Métodos cromatográficos para a análise de aminoácidos e açúcares em sementes de *Canavalia gladiata***. 1991. 83 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1991.

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Coffee Processing Solid Wastes: Current Uses and Future Perspectives. In: ASHWORTH, G. S.; AZEVEDO, P. **Agricultural Wastes (Agricultural issues and Policies Series)**. 1. ed. p. 155-189, 2009.

GONZALES, G. B.; RAES, K.; VANHOUTTE, H.; COELUS, S.; SMAGGHE, G.; CAMP, J. V. Liquid chromatography–mass spectrometry coupled with multi variate analysis for the characterization and discrimination of extractable and nonextractable polyphenols and glucosinolates from red cabbage and Brussels sprout waste streams. **Journal of Chromatography A**, v. 1402, p. 60-70, 2015.

GOUVEA, B. M.; TORRES, C.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; OLIVEIRA, E. S.; Feasibility of ethanol production from coffee husks. **Biotechnology Letters**, v. 31, 2009.

HARVEY, B. H.; BRINK, C. B.; SEEDAT, S.; STEIN, D. J. Defining the neuromolecular action of myo-inositol Application to obsessive–compulsive disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 26, p. 21-32, 2002.

HEIMBACH, J. T.; MARONE, P. A.; HUNTER, J. M.; NEMZER, B. V.; STANLEY, S. M.; KENNEPOHL, E. Safety studies on products from whole coffee fruit. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2517-2525, 2010.

HELDMAN, D. R.; HARTEL, R. W. **Principles of Food Processing**. 3° ed. Maryland: Editora Aspen, 1998. 283 p.

ICO, INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. World coffee production, 2017. Disponível em: <http://www.ico.org/pt/trade_statistics.asp>. Acesso em: 10 jun. 2017.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M.; MORGAN, L. M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: Glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 728-733, 2003.

KRINSKY, N. I. The biological properties of carotenoids. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, p. 1003-1010, 1994.

LEÃO, D. L. **Farinhas de casca de pequi: caracterização físico-química, perfil de fenólicos, antioxidantes e avaliação do potencial como fonte de pectina via extração por micro-ondas**. 2017. 129 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MACRAE, R. Nitrogenous componentes. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee Technology**. v. 2, London, 1987.

MARQUETTI, C. **Obtenção e caracterização de farinha de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) para adição em biscoito tipo cookie**. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

MARTÍNEZ-CRUZ, O.; PAREDES-LÓPEZ, O. Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1346, p. 43-58, 2014.

MASUDA, T.; KITAHARA, K.; ARAI, S.; KAWANO, A.; NAGASHIMA, K.; AIKAWA, Y. Quantitative determination of sugars and myo-inositol in citrus fruits grown in Japan using high-performance anion-exchange chromatography. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 49, n. 1, p. 64-68, 2003.

MATSUI, A.; YIN, Y.; YAMANAKA, K.; IWASAKI, M.; ASHIHARA, H. Metabolic fate of nicotinamide in higher plants. **Physiologia Plantarum**, v. 131, p. 191-200, 2007.

MCDUGALL, B.; KING, P. J.; WU, B. W.; STOMSKY, Z.; REINECKE, M. G.; ROBINSON, W. E., Jr. Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 42, p. 140-146, 1998.

MELO, J. C. S. **Avaliação do potencial tecnológico e antioxidante de cascas de café como substrato para produção de fibras alimentares**. 2013. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

MELTON, L. D.; SMITH, B. G. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. **Journal Wiley**, E3.2.1-E3.2.13, 2001.

MEYER, V. R. **Practical High-Performance Liquid Chromatography**. 1. ed., Wiley, 1993.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química a ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.

MONTEIRO, M. C.; TRUGO, L. C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 637-641, 2005.

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. F.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 327-331, 2009.

MOREIRA, E. A. M.; SHAMI, N. J. I. E. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal Feed and Technology**, v. 91, p. 3-20, 2001.

MURTHY, K. V. N.; D'SA, A.; KAPUR, G. An effluent treatment-cum-electricity generation option at coffee estates: is it financially feasible? **International Energy Initiative**, Bangalore, 2004.

MURTHY, P. S.; MADHAVA, N. M. Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid state fermentation utilizing coffee by-products. **World Applied Science Journal**, v. 2, p. 199-205, 2010.

MURTHY, P. S.; NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by products and value addition – a review. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 66, p. 45-58, 2012.

MUSSATTO, S. I.; MACHADO, E. M. S.; MARTIN, S.; TEIXEIRA, A. J. Production, composition and application of coffee and its industrial residues. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 661-672, 2011.

NAVARRE, D. A.; PILLAI, S. S.; SHAKYA, R.; HOLDEN, M. J. HPLC profiling of phenolics in diverse potato genotypes. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 34-41, 2011.

NOGUEIRA, T.; LAGO, C. L. Detection of adulterations in processed coffee with cereals and coffee husks using capillary zone electrophoresis. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 20, p. 3507-3511, 2009.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf as Quality Potential Indicators of Kenyan Black Teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, p. 209-215, 1997.

O'KEEFE, J. H.; BHATTI, S. K.; PATIL, H. R.; DINICOLANTONIO, J. J.; LUCAN, S. C.; LAVIE, C. J. J. Effects of Habitual Coffee Consumption on Cardiometabolic Disease, Cardiovascular Health, and All-Cause Mortality. **American College of Cardiology**, v. 62, p. 1043-1051, 2013.

OLIVEIRA, L. S.; FRANCA, A. S.; ALVES, T. M.; ROCHA, S. D. Evaluation of untreated coffee husks as potential biosorbents for treatment of dye contaminated waters, **Journal of Hazardous Materials**, v. 155, p. 507-512, 2008.

OOSTERVELD, J. S.; HARMSEN, A. G. I. VORAGEN, H. A. Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted coffee arabica beans. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 3, p. 285-296, 2003.

PALAFIX-CARLOS, H.; GIL-CHAVEZ, J.; SOTELO-MUNDO, R. R.; NAMIESNIK, J.; GORINSTEINO, S.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A. Antioxidant interactions between major phenolic compounds found in 'Ataulfo' mango pulp: chlorogenic, gallic, protocatechuic and vanillic acids. **Molecules**, v. 17, p. 12657-12664, 2012.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, O.; BRAND, D.; MOHAN, R.; ROUSSOS, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, p. 153-162, 2000.

PASSOS, C. P.; COIMBRA, M. A. Microwave superheated water extraction of polysaccharides from spent coffee grounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 626-633, 2013.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; SAURA-CALIXTO, F. Proanthocyanidin content in foods is largely underestimated in the literature data: An approach to quantification of the missing proanthocyanidins. **Food Research International**, v. 49, p. 1381-1388, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; TORRES, J. L. Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: the current state of the art, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 12713-12724, 2011.

PERRONE, A.; DONANGELO, C. M.; FARAH, A. Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1030-1035, 2008.

PETKOWICZ, C. L. O. Polysaccharides in coffee and their relationship to health: on overview. In: Preedy, V. R. **Coffee in health and disease prevention**. Elsevier, 2015.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Science Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007.

PONTE, S. The 'Latte Revolution' regulation, markets and consumption in the global coffee chain. **World Development**, v. 30, p. 1099-1122, 2002.

PRATA, E. R. B. A.; OLIVEIRA, L. S. Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. **LWT- Food Science and Technology**, v. 40, p. 1555-1560, 2007.

RATTAN, S.; PARANDE, A. K.; NAGARAJU, V. D.; GHIWARI, G. K. A Comprehensive review on utilization of waste water from coffee processing. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 6461-6472, 2015.

REDGWELL, R.; FISCHER, M. Coffee Carbohydrates. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 165-174, 2006.

REDGWELL, R. J.; CURTI, D.; FISCHER, M.; NICOLAS, P.; FAY, L. B. Coffee bean arabinogalactans: Acidic polymers covalently linked to protein. **Carbohydrate Research**, v. 337, p. 239-253, 2002.

RISSO, E. M.; PERÉS, R. G.; AMAYA-FARFAN, J. Determination of phenolic acids in coffee by micellar electrokinetic chromatography. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1578-1582, 2007.

RUIZ-ACEITUNO, L.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, S.; SANZ, J.; SANZ, M. L.; RAMOS, L. Optimization of pressurized liquid extraction of inositols from pine nuts (*Pinus pinea* L.). **Food chemistry**, v. 153, p. 450-456, 2014.

RUIZ-MATUTE, A. I.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, O.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, S.; SANZ, M. L.; MARTÍNEZ-CASTRO, L. Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses. **Journal of Chromatography B**, v. 879, n. 17-18, p. 1226-1240, 2011.

SAAKSJARVI, K.; KNEKT, P.; RISSANEN, H.; LAAKSONEN, M. A.; REUNANEN, A.; MANNISTO, S. Prospective study of coffee consumption and risk of Parkinson's disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 7, p. 908-915, 2007.

SAENGER, M.; HARTGE, E. U.; WERTHER, J.; OGADA, T.; SIAGI, Z. Combustion of coffee husks. **Renewable Energy**, v. 23, p. 103-121, 2001.

SALINAS-VARGAS, M. E.; CAÑIZARES-MACÍAS, M. P. On-line solid-phase extraction using a C₁₈ minicolumn coupled to a flow injection system for determination of caffeine in green and roasted coffee beans. **Food Chemistry**, v. 147, p. 182-188, 2014.

SAURA-CALIXTO, F. Concept and health-related properties of nonextractable polyphenols: The missing dietary polyphenols, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11195-11200, 2012.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 92, p. 21-40, 2001.

SEIFRIED, H. E.; ANDERSON, D. E.; FISHER, E. I.; MILNER, J. A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 8, p. 567-579, 2007.

SHAHIDI, F. Natural Antioxidants: An Overview. In: **Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 1996. p. 1-11.

SHANKARANAD, V. S.; LONSANE, B. K. Coffee husk: An inexpensive substrate for production of citric acid by *Aspergillus niger* in a solid-state fermentation system. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 165-168, 1999.

SHEMEKITE, F.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; FRANKE-WHITTLE, I. H.; PRAEHAUSER, B.; INSAM, H.; ASSEFA, F. Coffee husk composting: An investigation of the process using molecular and non-molecular tools. **Waste Management**, v. 34, p. 642-652, 2014.

SHI, J.; NAWAZ, H.; POHORLY, J.; MITTAL, G.; KAKUDA, I.; JIANG, Y. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods – engineering and technology. **Food Reviews International**, v. 21, p. 139-166, 2005.

Sigma-Aldrich. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SIMÕES, J.; MARICATO, E.; NUNES, F. M.; DOMINGUES, M. R.; COIMBRA, M. A. Thermal stability of spent coffee ground polysaccharides: Galactomannans and arabinogalactans. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 30, p. 256-264, 2014.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SITTIKIYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M. P. Modelling the theological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 339-350, 2005.

SMITH, A. W. Introduction. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee Technology**. v. 2, London, 1987.

SOUSA, P. B.; SILVA, E. F.; MONÇÃO, E. C.; SILVA, J. N.; SILVA, M. J. M.; SOUSA, M. M. Fenólicos totais, carotenóides e capacidade antioxidante de raspas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) In natura comercializadas em teresina-piauí. V Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação Tecnológica – V CONNEPI. Maceió–AL, 2010.

SOUZA, S.; PEDROSA, J.; RAMOS, A.; FERREIRA, P. J.; GAMELAS, J. A. F. Surface properties of xylan and xylan derivatives measured by inverse gas chromatography. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 506, p. 600-606, 2016.

SROKA, Z.; CISOWSKI, W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. **Food and Chemical Toxicology**, Amsterdam, v. 41, p. 753-758, 2003.

STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 3268 – 3295, 2007.

STICH, H. F.; ROSIN, M. P.; BRYSON, L. Inhibition of mutagenicity of a model nitrosation reaction by naturally occurring phenolics, coffee and tea. **Mutation Research**, v. 95, p. 119-128, 1982.

TAPIE, N.; MALHIAC, C.; HUCHER, N.; GRISEL, M. Determination of galactose and mannose residues in natural galactomannans using a fast and efficient high-performance liquid chromatography/UV detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1181, n. 1, p. 45-50, 2008.

TRUTE, A.; GROSS, J.; MUTSCHLER, E.; NAHRSTEDT, A. In vitro antispasmodic compounds of the dry extract obtained from *Hedera helix*. **Planta Med.**, v. 63, p. 125-129, 1997.

TOSCHI, T. G.; CARDENIA, V.; BONAGA, G.; MANDRIOLI, M.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T. Coffee Silverskin: Characterization, Possible Uses, and Safety Aspects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 10836-10844, 2014.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, p. 816-823, 2008.

VASILESCU, I.; EREMIA, S. A. V.; ALBU, C.; RADOI, A.; LITESCU, A.; RADU, G. Determination of the antiradical properties of olive oils using an electrochemical method based on DPPH radical. **Food Chemistry**, v. 166 p. 324-329, 2015

VERBIST, B.; DUTRA, A. E. D.; BUDIDARSONO, S. Factors driving and use change: effects on water shed functions in a coffee agro forestry system in Lampung. **Agricultural Systems**, v. 85, p. 254-270, 2005.

XIE, L.; GUO, J.; ZHANG, Y.; SHI, S. Determination of protocatechuic acid in fruit juices by selective and rapid magnetic molecular imprinted solid phase extraction coupled with HPLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 32, p. 8221-8228, 2014.

Xilana. Disponível em: <<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohidratos2.html>>. Acesso em: 03 mar. 2017.

Xiloglucana. Disponível em: <<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%204/AQM4hemicelulosas.html>>. Acesso em: 23 mai. 2017.

ZHANG, Q.; CHEN, W.; ZHAO, J.; XI, W. Functional constituents and antioxidant activities of eight Chinese native goji genotypes. **Food Chemistry**, v. 200, p. 230-236, 2016.

ZHU, Q. Y.; HOLT, R. R.; LAZARUS, S. A.; OROZCO, T. J.; KEEN, C. L.; Inhibitory effects of cocoa flavanols and procyanidin oligomers on free radical-induced erythrocyte hemolysis. **Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 227, p. 321-329, 2002.

ZUORRO, A.; MAFFEI, G.; LAVECCHIA, R. Reuse potential of artichoke (*Cynara scolimus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. **Journal of Cleaner Production**, v. 111, p. 279-284, 2015.

ZURITA, J.; DÍAZ-RUBIO, M. E; SAURA-CALIXTO, F. Improved procedure to determinate non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 2, p. 936-939, 2012.

WANG, W.; BOSTIC, T. R.; GU, L. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados on different strains and cultivars. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1193-1198, 2010.

WHITE, B. L.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Release of found procyanidins from cran-berry pomace by alkaline hydrolysis, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58 p. 7572-7579, 2010.

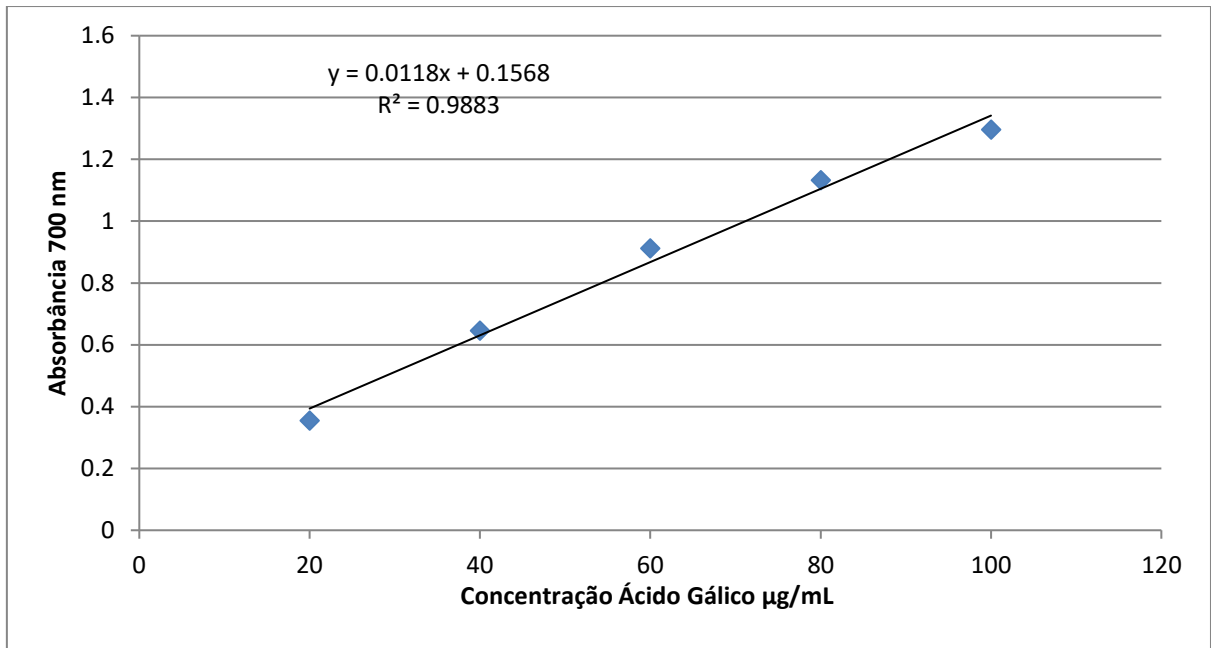
WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Polyphenols in chocolate: Is there a contribution to human health? **Food Research International**, v. 33, p. 449-459, 2000.

WROLSTAD, R. E. Food Carbohydrate Chemistry. Food carbohydrate chemistry / Ronald E. Wrolstad. – 1st ed. p. cm. – (Institute of food technologists series; 48), 2013.

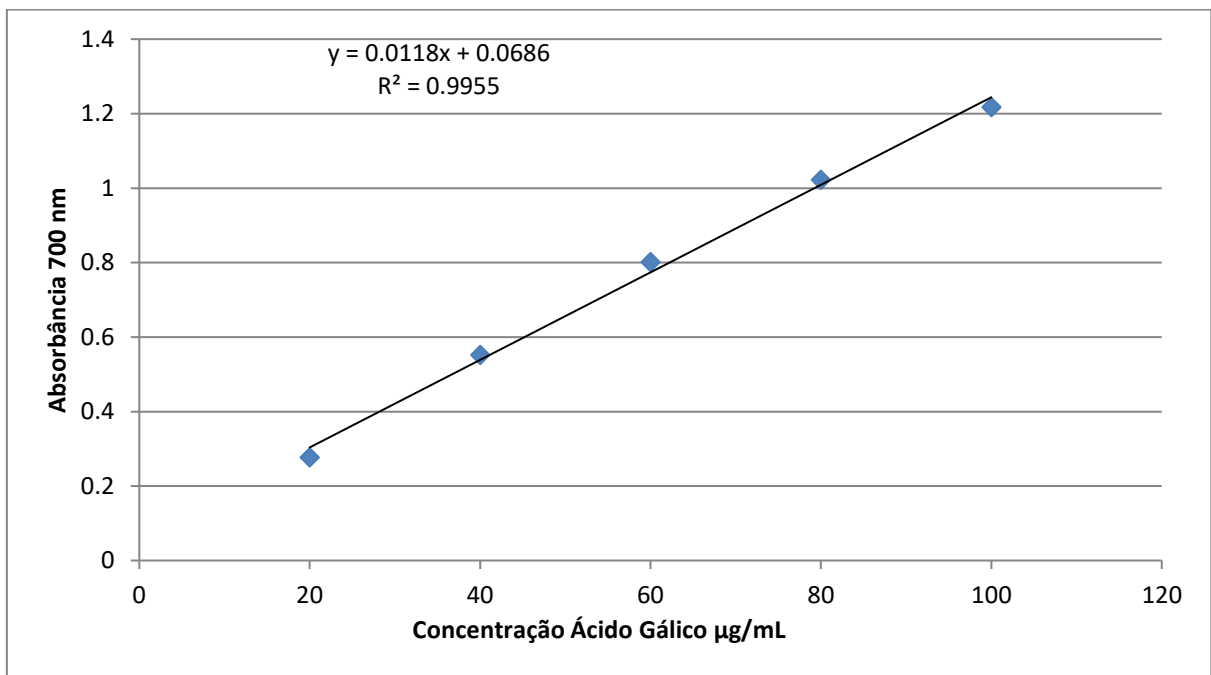
YIN, M. C.; LIN, C. C.; WU, H. C.; TSAO, S. M.; HSU, C. K. Apoptotic effects of protocatechuic acid in human breast, lung, liver, cervix, and prostate cancer cells: potential mechanisms of action. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 6468-6473, 2009.

APÊNDICES

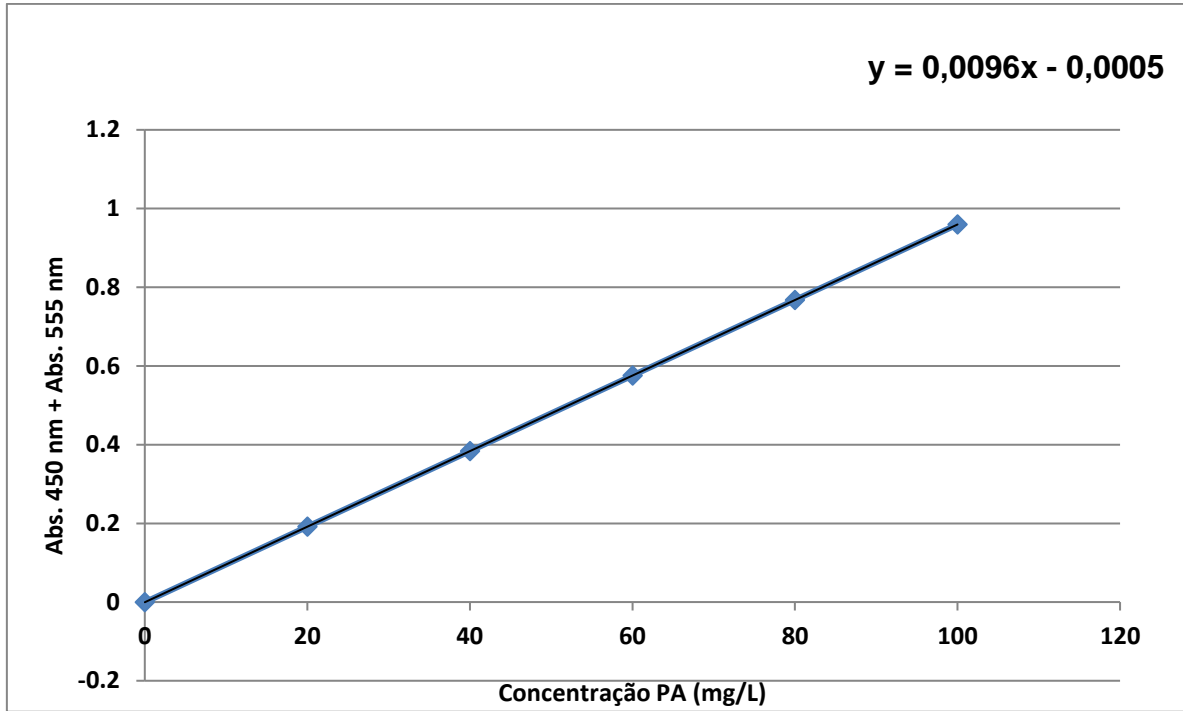
APÊNDICE A – Curva padrão de ácido gálico utilizada para quantificação de compostos fenólicos extraíveis.



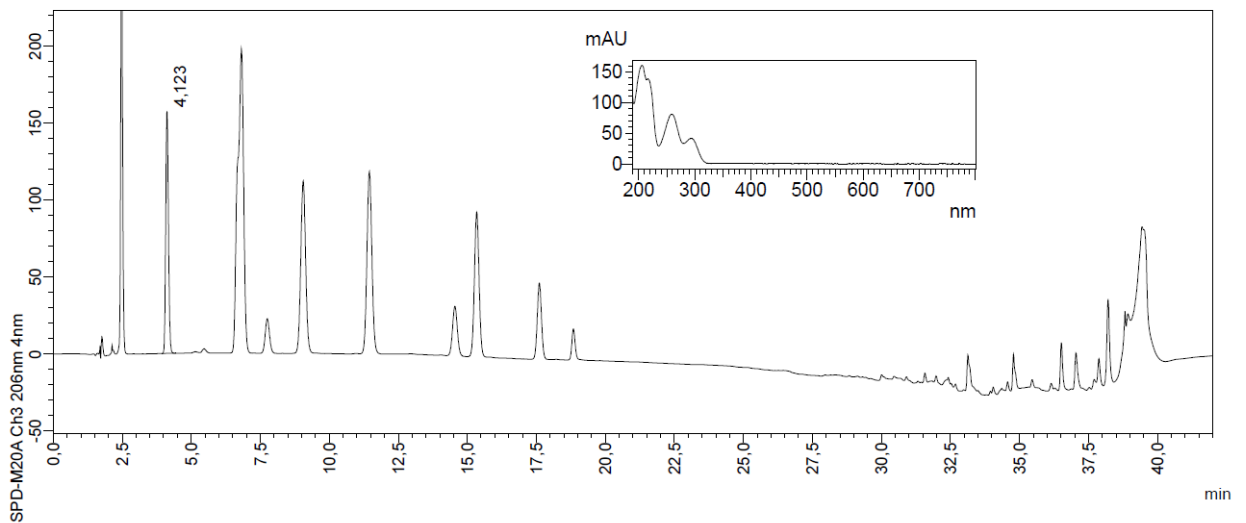
APÊNDICE B – Curva padrão de ácido gálico utilizada para quantificação de compostos fenólicos não extraíveis (taninos hidrolisáveis).



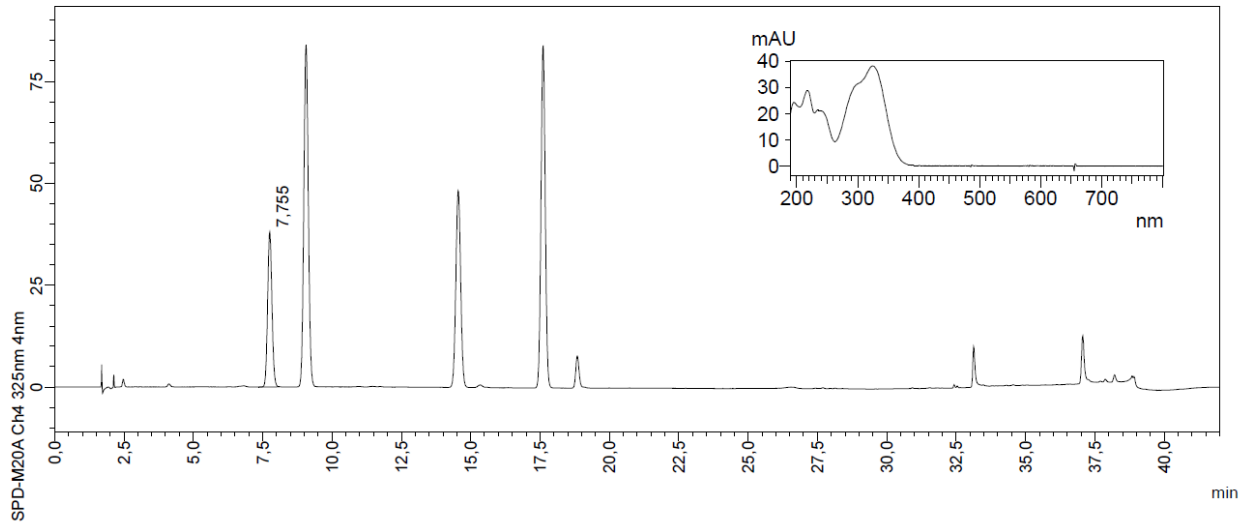
APÊNDICE C – Curva Padrão de taninos de alfarroba utilizada para quantificação de proantocianidinas totais.



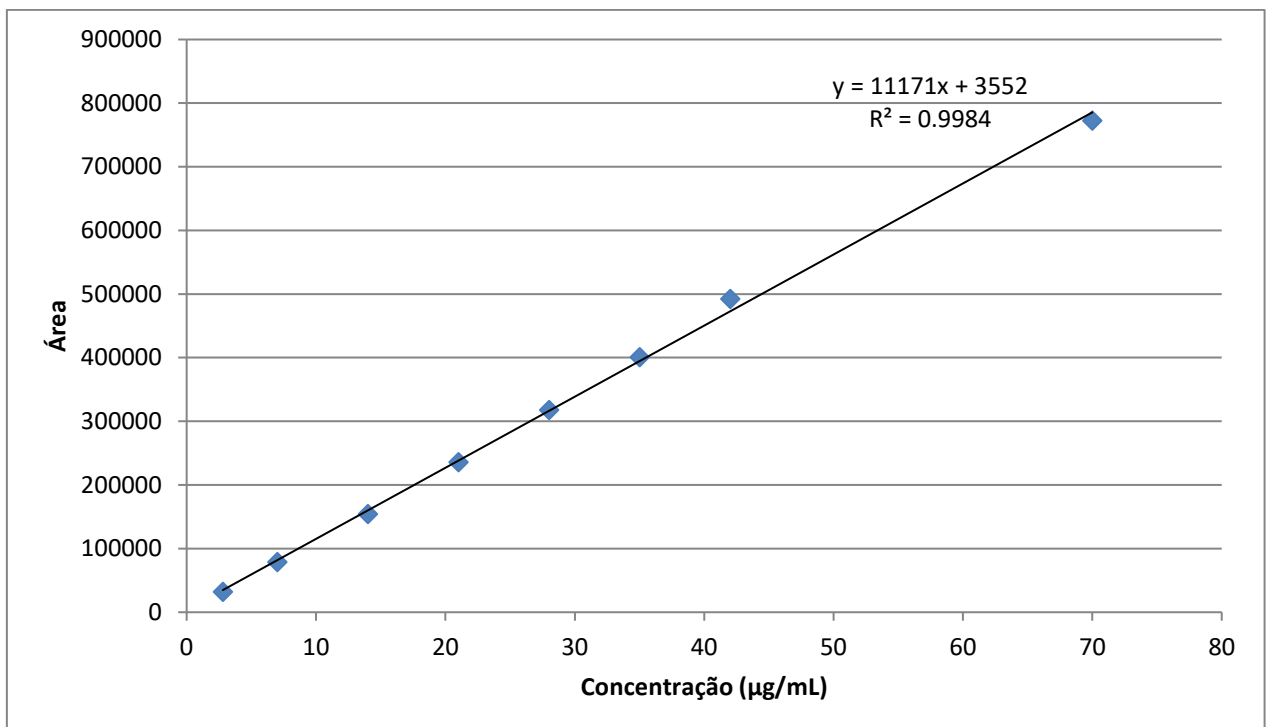
APÊNDICE D – Cromatograma e espectro de ácido protocatecuico obtido através da leitura do padrão na concentração de 35 µg/mL.



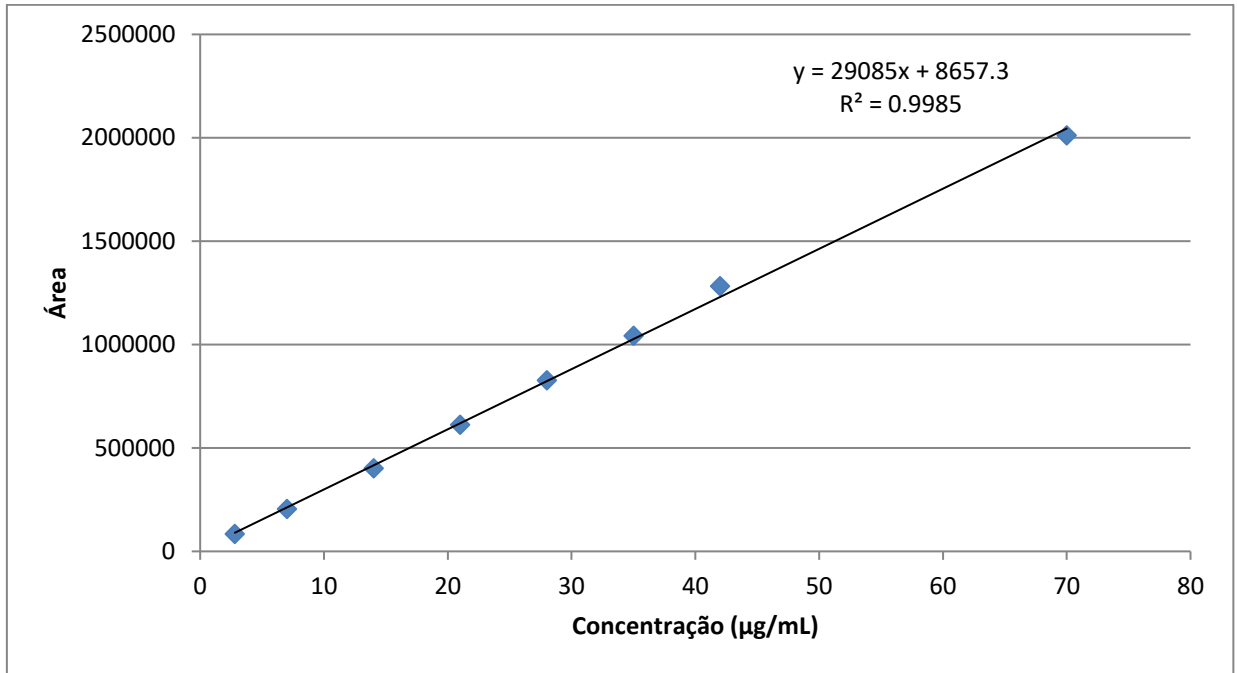
APÊNDICE E – Cromatograma e espectro de ácido clorogênico obtido através da leitura do padrão na concentração de 35 µg/mL.



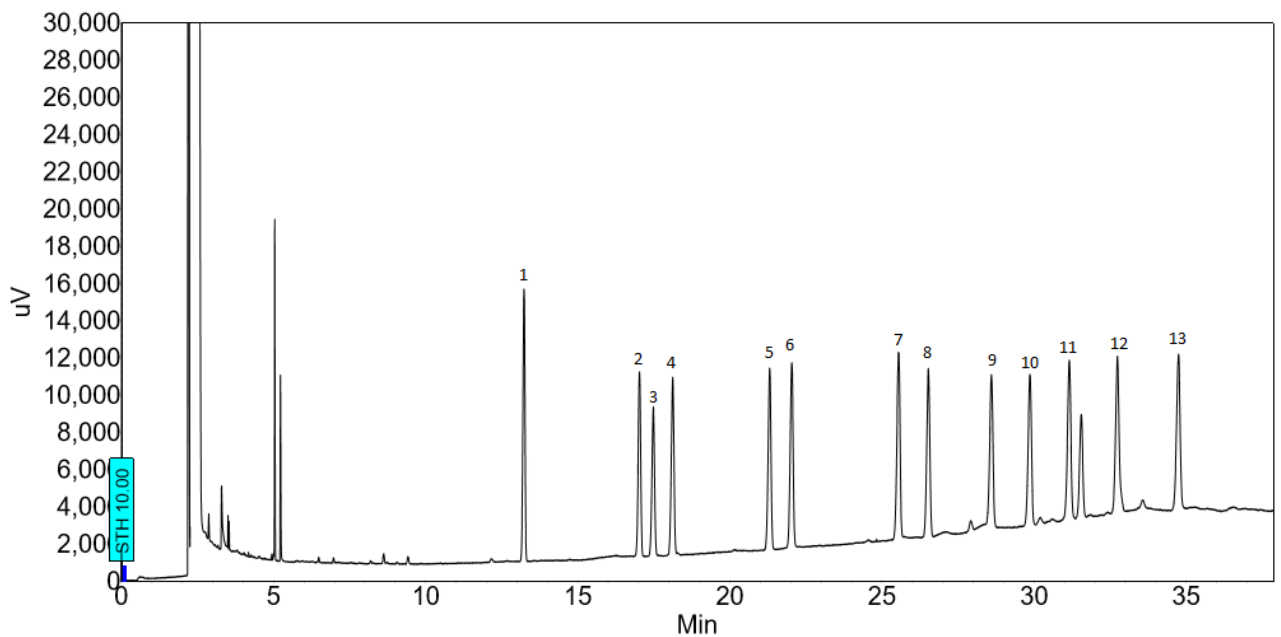
APÊNDICE F – Curva padrão do ácido clorogênico.

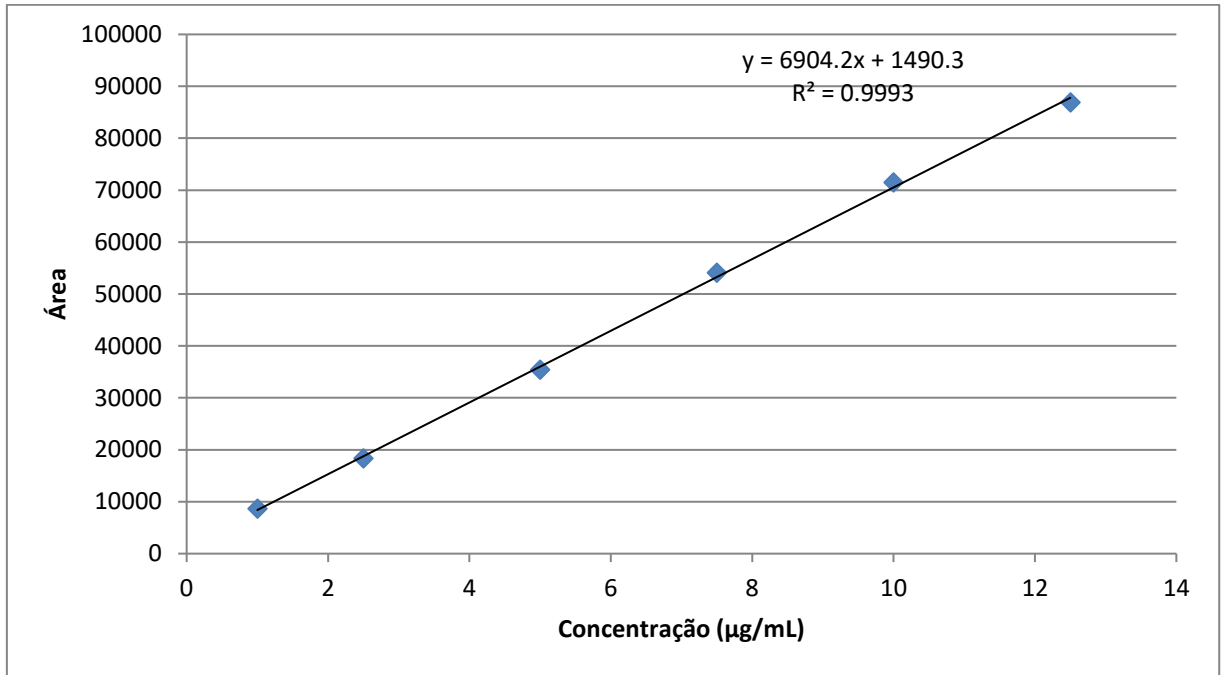
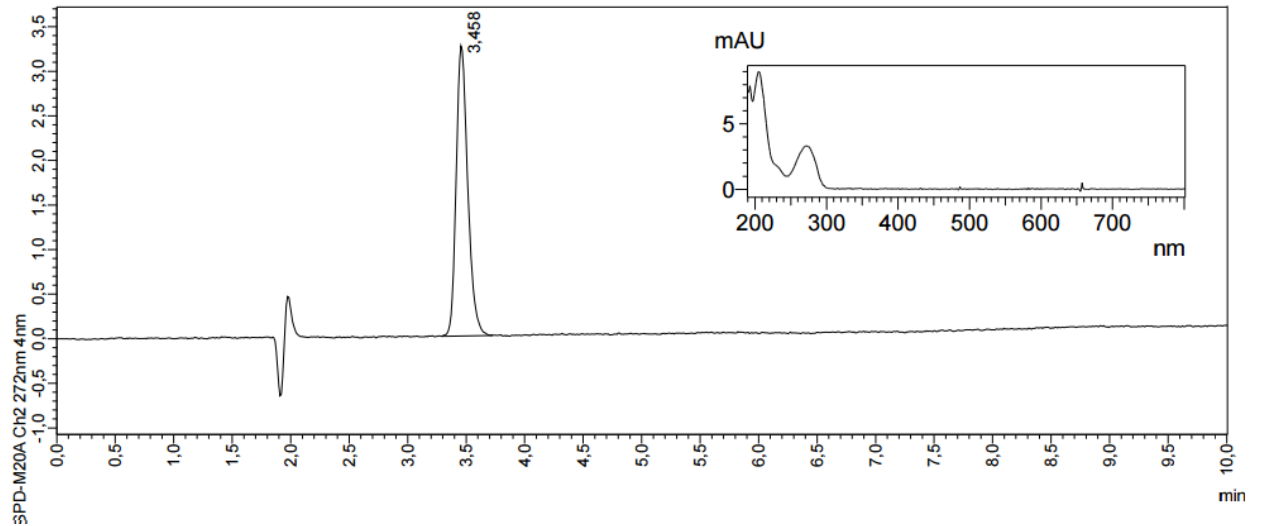


APÊNDICE G – Curva padrão do ácido protocatecuico.

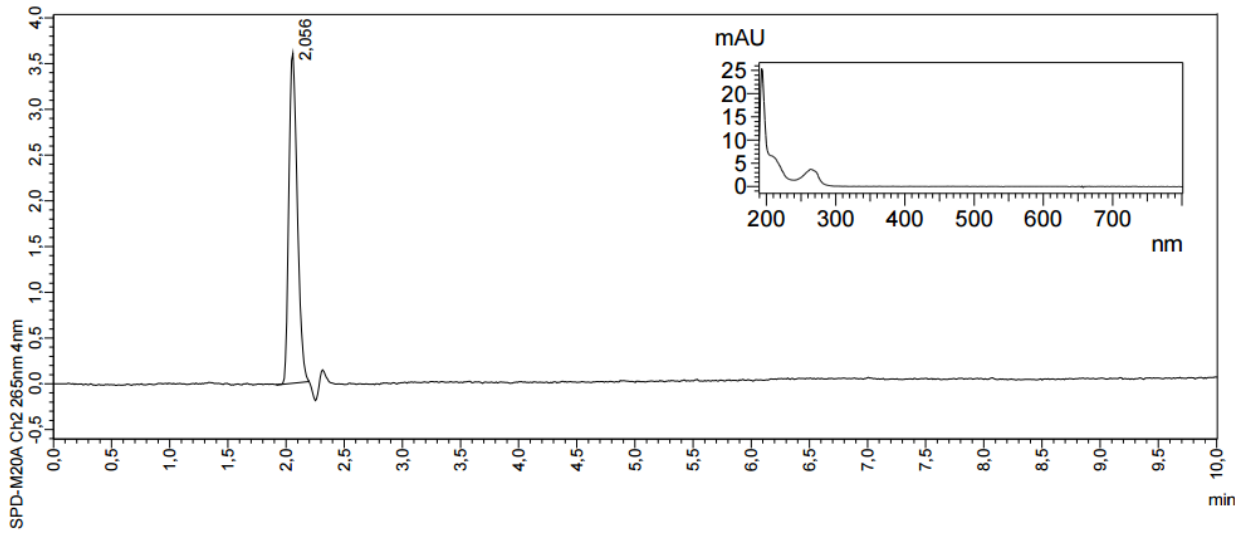


APÊNDICE H – Cromatograma dos 13 padrões de monossacarídeos (1-Eritritol, 2-Deoxiribose, 3-Ramnose, 4-Fucose, 5-Ribose, 6-Arabinose, 7-Xilose, 8-Deoxiglicose, 9- Alose, 10- Manose, 11- Galactose, 12- Glicose, 13- Mio-Inositol).



APÊNDICE I – Curva padrão de trigonelina.**APÊNDICE J**- Cromatograma e espectro de cafeína obtido através da leitura do padrão na concentração de 0,0025 g/mL.

APÊNDICE K – Cromatograma e espectro de trigonelina obtido através da leitura do padrão na concentração de 0,0025 g/mL.



APÊNDICE L – Curva padrão de cafeína.

