



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E DO
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS OBTIDOS A
PARTIR DE CASCA E DE BORRA DE CAFÉ (*Coffea arabica L.*)**

KÁTIA SUZANA ANDRADE

**FLORIANÓPOLIS – SC
2011**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

Kátia Suzana Andrade

**AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E DO
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS OBTIDOS A
PARTIR DE CASCA E DE BORRA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos na Indústria de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira

Co-orientador: Prof. Dr. Julian Martínez

Florianópolis – SC

2011

Kátia Suzana Andrade

**AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E DO
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS OBTIDOS A
PARTIR DE CASCA E DE BORRA DE CAFÉ (*Coffea arabica L.*)**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Engenharia de Alimentos”, e aprovada em sua forma final pelo Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Florianópolis, x de xxxxx de xxxx.

Prof. xxx, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a, Dr.^a xxxx,
Orientadora
Universidade xxxx

Prof.^a, Dr.^a xxxx,
Co-Orientadora
Universidade xxxx

Prof., Dr. xxxx,
Universidade xxxxxx

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente e ter me dado forças ao longo do caminho.

À minha orientadora, Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira pela orientação, dedicação, paciência e incentivo que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Julian Martínez, que mesmo à distância prestou seu auxílio e atenção.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos, pelos importantes ensinamentos à minha formação profissional.

À Profa. Dra. Alcilene R. M. Fritz e à secretária Raquel C. Agostineto, pela competência e apoio fundamentais na Coordenação do Curso de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos.

Aos professores Dr. Artur Smânia Júnior, Dra. Elza de Fátima Albino Smânia e Dr. Marcelo Maraschin pelas gentis colaborações neste trabalho.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

Ao CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro.

À Fazenda Tulha, representada pela Prof. Rosa Maria Ribeiro do Valle, pela doação da matéria-prima.

Aos meus colegas do LATESC pelas experiências, companheirismo e momentos de descontração. Em especial, a Pati e Nati, por sempre me auxiliarem, apoiarem e entenderem minhas constantes dúvidas.

À minha sempre companheira de experimentos, Simone Mazzutti, pelas incontáveis vezes em que me incentivou, apoiou e falou que ia ficar tudo bem, que tudo daria certo. Por nunca ter me negado ajuda, nas diversas vezes em que eu solicitei!

Ao aluno de iniciação científica Ricardo Thomazelli Gonçalves, pela dedicação fundamental para a realização da parte prática deste trabalho.

Às minhas irmãs, a de sangue e a de coração, Karol e Thalita, pela companhia, convivência, paciência no dia-a-dia e por fazerem da nossa casa uma pequena família.

À minha mãe e aos meus avós pelo carinho, compreensão e apoio incondicionais dados a mim durante toda a vida, principalmente nos momentos mais difíceis.

Ao meu namorado Fábio por todo o amor, carinho e confiança.

A todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim e pelo sucesso deste trabalho.

RESUMO

O Brasil é atualmente o maior produtor mundial de café, representando 30% do mercado, com um volume equivalente a soma dos outros seis países de maior produção. A grande produção e também o consumo de café levam a geração de uma enorme quantidade de resíduos. Devido à importância dos diferentes compostos presentes nos resíduos de café, a obtenção de extratos a partir dessas fontes seria uma alternativa de agregação de valor a um subproduto agroindustrial tão abundante. Assim, o objetivo deste estudo foi a obtenção de extratos de casca e de borra de café, utilizando tecnologia supercrítica e métodos de extração a baixa pressão, a fim de avaliar o potencial antioxidante e a composição dos extratos, e ainda fazer a determinação dos parâmetros cinéticos do processo de ESC. Os extratos obtidos pelos métodos a baixa pressão (soxhlet e ultrassom) mostraram maiores rendimentos quando comparados à extração supercrítica. O potencial antioxidante foi avaliado pelos métodos DPPH, ABTS e Folin-Ciocalteu, sendo que os melhores potenciais antioxidantes foram verificados para os extratos de casca de café obtidos à baixa pressão. A quantificação e identificação dos extratos foram avaliadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os principais compostos identificados foram cafeína e ácido clorogênico.

ABSTRACT

Brazil is currently the world's largest producer of coffee, representing for 30% of the market, with a volume equivalent to the sum of production of the other six countries with the highest production. The large production and consumption of coffee in the country also leads to generation of a huge amount of waste. Because of the importance of the different compounds present in coffee waste, obtaining extracts appears as an important alternative source for the added value of agro-industrial waste. The objective this study was to obtain extracts of coffee husks and coffee grounds (*Coffea arabica*) in order to evaluate the application of supercritical technology in obtaining compounds of high added value by analyzing the composition and profile of biological activity of the extracts, as well the determination of kinetic parameters of the process. The extracts obtained by LPE (soxhlet and ultrasound) showed best results for the global yield extraction (X_o) when compared to SFE extracts. The potencial antioxidant was evaluated by DPPH method, ABTS method and Folin-Ciocalteu method. The best antioxidant activity was showed by coffee husks extractions, obtained by LPE. The quantification and the identification of the extracts were accomplished using HPLC analysis. The main compounds identified were caffeine and chlorogenic acid.

“Quando os ventos da mudança sopram, umas pessoas levantam barreiras, outras constroem moinhos.”

Érico Veríssimo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Índice de polaridade dos solventes orgânicos utilizados na extração em Soxhlet.	55
Tabela 2: Planejamento experimental fatorial completo 3^2 com as variáveis temperatura (T) e pressão (P), variando em três níveis.	58
Tabela 3: Teor de umidade e substâncias voláteis.	65
Tabela 4: Caracterização do leite de partículas formado para a extração supercrítica.	66
Tabela 5: Parâmetros cinéticos de extração de casca de café a 200 bar, 50 ° C e vazão de solvente de 11 ± 2 g/min.	69
Tabela 6: Parâmetros cinéticos de extração de borra de café a 200 bar, 50 ° C e vazão de solvente de 11 ± 2 g/min.	70
Tabela 7: Rendimento global (X_0) das extrações a baixa pressão, utilizando solventes com polaridades variadas.	71
Tabela 8: Valores de rendimento global de extração de casca e de borra de café (X_0) obtidos em diferentes condições de temperatura e pressão.	72
Tabela 9: Parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dos erros (SQR) dos modelos obtidos pela modelagem das curvas de ESC para casca de café.	80
Tabela 10: Teor de compostos fenólicos totais (TFT), expressos em equivalentes de ácido clorogênico (EAC), para os extratos de casca e de borra de café e BHT.	84
Tabela 11: Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de casca de café avaliado pelo método DPPH.	86
Tabela 12: Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de borra de café avaliado pelo método DPPH.	88
Tabela 13: Capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS para os extratos de casca de café.	91
Tabela 14: Capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS para os extratos de borra de café.	92
Tabela 15: Compostos fenólicos identificados ($\mu\text{gEAG/g}$) nos extratos de casca e de borra de café.	97
Tabela 16: Perfil de metilxantinas e seus respectivos tempos de retenção para os extratos de casca e de borra de café.	98

Tabela 17: Tempos de extração, massas, massas acumuladas e rendimentos do experimento cinético para casca de café a 200 bar, 50 °C e 11 ± 2 g CO₂/min..... 121

Tabela 18: Tempos de extração, massas, massas acumuladas e rendimentos do experimento cinético para borra de café a 200 bar, 50 °C e 11 ± 2 g CO₂/min..... 122

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama pressão-temperatura para um componente puro (Adaptado de MUKHOPADHYAY, 2000).	43
Figura 2: Representação da curva de ESC apresentando as 3 etapas da extração (MARTÍNEZ, 2005).	47
Figura 3: Casca de café <i>in natura</i> no recebimento	50
Figura 4: (a) borra de café úmida; (b) submetida à secagem; (c) acondicionada em embalagem plástica.	51
Figura 5: (a) casca de café <i>in natura</i> ; (b) moída; (c) acondicionada em embalagem plástica.	52
Figura 6: Picnômetro acoplado ao cilindro de gás hélio.	54
Figura 7: Equipamento para extração em Soxhlet.....	56
Figura 8: Micrografia obtida por MEV das partículas de casca de café de diâmetro $0,63\pm 0,16$ mm, com aumento de 40x.....	67
Figura 9: Micrografia obtida por MEV das partículas de borra de café, de diâmetro $0,25\pm 0,04$ mm, com aumento de 200x.....	67
Figura 10: Curva de extração com CO ₂ supercrítico de casca e de borra de café a 200 bar, 50 ° C e 11 ± 2 g/min de solvente.....	69
Figura 11: Isotermas de rendimento de extração supercrítica para a casca de café.....	74
Figura 12: Isotermas de rendimento de extração supercrítica para a borra de café.....	75
Figura 13: Rendimento global X ₀ para os extratos de casca e de borra de café utilizando etanol como cossolvente.	76
Figura 14: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,06cm e vazão de solvente de 16,6 g/min.	78
Figura 15: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,03cm e vazão de solvente de 11,6 g/min.	78
Figura 16: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,05cm e vazão de solvente de 6,6 g/min.	79

Figura 17: (a) 300 bar, 60 ° C; (b) 200 bar, 40 ° C; (c) 200 bar, 50 ° C, 8% etanol.....	94
Figura 18: (a) 200 bar, 60 ° C; (b) 300 bar, 60 ° C; (c) 100 bar, 60 ° C, 15% etanol.....	94
Figura 19: Curva padrão de ácido clorogênico utilizada no cálculo de TFT dos extratos de casca e de borra de café.....	123
Figura 20: Curva padrão de Trolox utilizada na determinação de capacidade antioxidante dos extratos de casca e de borra de café.	124
Figura 21: Micrografia obtida por MEV das partículas de casca de café, com aumento de 40x.....	125
Figura 22: Detalhe de uma partícula de casca de café com aumento de 150x.....	126
Figura 23: Micrografia obtida por MEV das partículas de borra de café, com aumento de 250x.....	126
Figura 24: Micrografia obtida por MEV das partículas de borra de café, com aumento de 500x.....	127
Figura 25: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,06cm e vazão de solvente de 11,6 g/min.	129
Figura 26: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,06cm e vazão de solvente de 6,6 g/min.	130
Figura 27: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,03cm e vazão de solvente de 16,6 g/min.	130
Figura 28: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,05cm e vazão de solvente de 16,6 g/min.	131
Figura 29: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,05cm e vazão de solvente de 11,6 g/min.	132

NOMENCLATURA

b_i	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003), min^{-1}
CER	Etapa de taxa constante de extração
CO_2	Dióxido de carbono
D	Coefficiente de difusão, m^2/min
ρ_a	Massa específica aparente do leite, g/cm^3
ρ_r	Massa específica real das partículas, g/cm^3
ESC	Extração supercrítica
FER	Etapa de taxa decrescente de extração
h	Coordenada axial do leito de extração, cm
H	Comprimento total do leito de extração, cm
k_{xa}	Coefficiente de transferência de massa na fase sólida, s^{-1}
k_{ya}	Coefficiente de transferência de massa na fase fluida, s^{-1}
M	Massa total de matéria-prima, g
m_0	Massa total inicial de soluto na coluna de extração (g)
M_{CER}	Taxa de transferência de massa no período CER, kg/s
m_{ext}	Massa de extrato, g
M_{SI}	Massa de sólido inerte, g
n	Número inteiro
Q_{CO_2}	Vazão de solvente, kg/h
r	Raio da partícula sólida, cm
t	Tempo de extração, s
t_{CER}	Duração da etapa CER, s
T_{FER}	Duração da etapa FER, s
t_{mi}	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003), min
V_1	Volume da célula de extração, m^3
X_0	Razão mássica de extrato na matéria-prima, g/g
X_k	Razão mássica de soluto de difícil acesso, g/g
X_p	Razão mássica de soluto de fácil acesso, g/g

Z	Parâmetro do modelo de Sovová (1994) relacionado com a convecção na fase fluida do leito de extração
Z_w	Parâmetro do segundo período de extração do modelo de Sovová (1994)
Y^*	Solubilidade do soluto no solvente, g/g
Y_{CER}	Razão mássica de soluto no solvente no período CER, g/g
W	Parâmetro do modelo de Sovová (1994) relacionado com a difusão na fase sólida do leito de extração
ε	Porosidade do leito de extração
ρ	Massa específica do solvente, g/cm ³
ρ_s	Massa específica do sólido, g/cm ³

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 OBJETIVOS	29
2.1 OBJETIVO GERAL	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
3.1 CAFÉ	31
3.1.1 Casca de café	32
3.1.2 Borra de café	33
3.2 ANTIOXIDANTES	34
3.2.1 Compostos fenólicos.....	36
3.2.2 Metilxantinas.....	37
3.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	38
3.3.1 Soxhlet.....	39
3.3.2 Ultrassom.....	40
3.3.3 Extração supercrítica (ESC)	41
3.4 MODELAGEM MATEMÁTICA.....	47
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
4.1 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	49
4.2 PRÉ-TRATAMENTO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	50
4.2.1 Borra de café	50
4.2.2 Casca de café	51
4.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS.	52
4.4 CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS DA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA.	53
4.4.1 Determinação do diâmetro médio de partícula.....	53
4.4.2 Determinação da massa específica aparente (ρ_a)	53
4.4.3 Determinação da massa específica real (ρ_r).....	53
4.4.4 Porosidade do leito.....	53

4.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DO SOLVENTE SUPERCRÍTICO.....	54
4.6 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE	54
4.7 EXTRAÇÕES À BAIXA PRESSÃO.....	55
4.7.1 Extração em Soxhlet.....	55
4.7.2 Extração com ultrassom.....	56
4.8 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (ESC)	57
4.8.1 Determinação do rendimento global de extração (X_0) ...	58
4.8.2 Experimentos cinéticos – Curvas de extração e parâmetros cinéticos.....	59
4.8.3 Emprego de cossolvente	60
4.9 MODELAGEM MATEMÁTICA	60
4.10 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	61
4.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	62
4.11.1 Método DPPH.....	62
4.11.2 Método ABTS	62
4.12 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E METILXANTINAS.....	63
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS.....	65
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS.....	65
5.3 TESTES PRELIMINARES	68
5.4 RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO (X_0).....	70
5.4.1 Extrações a baixa pressão	70
5.4.2 Extração supercrítica	72
5.5 MODELAGEM MATEMÁTICA	77
5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS.....	82
5.6.1 Teor de compostos fenólicos totais (TFT).....	82
5.6.2 Atividade antioxidante pelo método DPPH.....	85
5.6.3 Capacidade antioxidante total pelo método ABTS.....	90

5.7 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E METILXANTINAS	93
5.7.1 Compostos fenólicos.....	94
5.7.2 Metilxantinas.....	98
6 CONCLUSÃO	101
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	102
REFERÊNCIAS	103
APÊNDICES.....	115
APÊNDICE I : MODELOS MATEMÁTICOS.....	115
APÊNDICE II: DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO (TESTES PRELIMINARES).....	121
APÊNDICE III: CURVAS DE CALIBRAÇÃO	123
APÊNDICE IV: MICROGRAFIAS (MEV).....	125
APÊNDICE V: CURVAS DE EXTRAÇÃO - DADOS EXPERIMENTAIS E MODELADOS.	129

1 INTRODUÇÃO

O mercado mundial de produtos naturais é responsável pela movimentação anual de aproximadamente US\$ 500 bilhões (ROSA; MEIRELES, 2005). O Brasil participa com apenas 10 % desse mercado mundial, apesar do extenso parque natural existente. Este potencial de recursos naturais não completamente explorado é também motivado pela escassez de investimento em tecnologias para agregar valor às matérias-primas existentes no país ou aos resíduos industriais. Apesar disto, o avanço dos estudos envolvendo produtos naturais se justifica pelas propriedades medicinais, cosméticas, aromáticas, corantes ou nutracêuticas de diversos extratos de plantas.

O Brasil é, atualmente, o maior produtor mundial de café, sendo responsável por 30% do mercado internacional, com um volume equivalente à soma da produção dos outros seis países de maior produção. Aproximadamente 86% da produção brasileira concentram-se nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Paraná e São Paulo (ABIC, 2010).

Em março deste ano, a Associação Brasileira da Indústria do Café (ABIC) divulgou dados relativos ao consumo interno brasileiro, que, no período compreendido entre novembro/2009 e outubro/2010, apresentou um aumento de 4,03% no consumo em relação ao período anterior correspondente (ABIC, 2011).

A qualidade do café, além dos atributos sensoriais, pode ser avaliada através da identificação e da quantificação dos componentes presentes neste produto, tais como a cafeína, que está associada à saúde humana, a trigonelina e os ácidos clorogênicos, compostos responsáveis pela formação do flavor durante a torrefação (TRUGO; MACRAE, 1989).

Referindo-se às atividades fisiológicas e metabólicas, o café é conhecido por suas qualidades tonificantes, as quais ativam o sistema nervoso, servindo como estimulantes e reduzindo a fadiga. A maioria destas atividades está relacionada com a cafeína. Sabe-se que o café possui propriedades antioxidantes, assim como a cafeína, que apresenta um importante efeito radioprotetor em tecidos celulares (GEORGE et al., 1999; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; JIMÉNEZ-ESCRIG; SAURA-CALIXTO, 2005).

Os compostos fenólicos, especificamente os ácidos clorogênicos, aparecem em concentrações que variam de 6% a 10% do peso seco dos

grãos (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; JIMÉNEZ-ESCRIG; SAURA-CALIXTO, 2005).

A grande produção e consumo de café no país levam também a geração de uma enorme quantidade de resíduos. De acordo com Badocha et al (2003), a quantidade de casca de café gerada durante o processamento é equivalente ao total de grãos beneficiados. Em uma indústria de café solúvel, para cada tonelada de café produzida são geradas 4,5 t de borra, com aproximadamente 80% de umidade. Apesar da grande quantidade de resíduos gerados no meio agrícola e agroindustrial, apenas uma pequena porcentagem é aproveitada em razão do desconhecimento do potencial energético e pela falta de equipamentos apropriados para sua utilização (MAGALHÃES et al, 2008).

A casca de café é o principal resíduo do beneficiamento do café e normalmente é empregada na alimentação de ruminantes. No entanto, ela é considerada antinutricional devido à presença de substâncias tóxicas a estes animais, como cafeína (1,2%), taninos (6,3%) e polifenóis (SOCCOL, 2002).

Um estudo desenvolvido pelo programa de Pós-graduação em Energia da USP estudou o aproveitamento da borra de café, gerada pelo preparo doméstico da bebida de café, como fonte de energia. O trabalho demonstrou que o óleo essencial extraído da borra de café é uma matéria-prima viável para a produção de biodiesel. O óleo foi obtido por meio da extração em Soxhlet utilizando etanol como solvente (SANTOS, 2010; ABIC, 2011).

Devido à importância dos diferentes compostos presentes nos resíduos do café, a obtenção dos extratos surge como uma importante fonte alternativa de renda pela agregação de valor deste resíduo agroindustrial. A qualidade dos extratos obtidos de uma matéria-prima está fortemente relacionada com a técnica de extração empregada, sendo que a qualidade dos extratos é avaliada através do perfil químico do produto. A tecnologia supercrítica surge então como uma técnica moderna de extração que busca o aumento da qualidade através da exploração da seletividade do processo, uma de suas principais características (FRANÇA, 1999; BRUNNER, 1994).

Dentre os métodos tradicionalmente usados para a obtenção de extratos vegetais está a extração com solvente orgânico. O emprego de solventes orgânicos com variadas polaridades tem como principais restrições a presença de resíduo de solvente no extrato e a obtenção de compostos indesejáveis no produto. A tecnologia supercrítica representa uma alternativa aos processos de extração existentes, com possibilidade

de alcance de maior seletividade de operação e obtenção de extratos livres de solvente.

As propriedades dos fluidos supercríticos elevam as taxas de extração e os rendimentos, comparativamente com os solventes gasosos, uma vez que as altas massas específicas dos fluidos conferem grande poder de solvatação, enquanto os baixos valores de viscosidade combinados com valores de difusividade fornecem alto poder de penetração na matriz sólida (AGHEL et al., 2004; TSAO; DENG, 2004).

A taxa de extração e o rendimento de processo da tecnologia supercrítica na obtenção dos extratos de casca e de borra de café dependem das condições de operação como temperatura, pressão, vazão de solvente e parâmetros geométricos. Assim, o estudo do comportamento destes parâmetros de processo, aliado à avaliação da qualidade dos extratos, auxilia na otimização da extração com fluido supercrítico.

Para que seja possível a aplicação industrial da técnica de extração, é necessária a determinação da eficiência do processo que combina qualidade do produto com rendimento de extração. Para atender este objetivo, o presente estudo visa comparar o extrato obtido por técnicas convencionais de extração (soxhlet e ultrassom com hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol) com o extrato obtido por tecnologia supercrítica (com CO₂ puro e com CO₂ com cossolvente definido pelos resultados das extrações convencionais). Além do fundamento tecnológico, é importante determinar a composição química dos extratos e a sua atividade biológica, como a atividade antioxidante, a fim de justificar o processo de aproveitamento da casca e da borra de café, permitindo a agregação de valor do produto e a diminuição do acúmulo destes resíduos agroindustriais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação de diferentes técnicas de obtenção de extratos de casca e de borra de café, visando a comparação entre os rendimentos de extração e a atividade antioxidante dos extratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Utilização de técnicas convencionais de extração, Soxhlet e Ultrassom, com solventes orgânicos de diferentes polaridades para a obtenção de extratos de casca e de borra de café;
- b) Avaliação do rendimento da extração supercrítica (ESC) em função das condições de operação e comparação com as técnicas convencionais de extração;
- c) Análise da atividade antioxidante dos extratos através dos métodos DPPH (1,1-diphenil-2-picryl hydrazil) e ABTS;
- d) Determinação do teor de fenólicos totais dos extratos pelo método de Folin-Ciocalteu;
- e) Análise do perfil de compostos fenólicos e metilxantinas dos extratos por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência);
- f) Avaliação da influência da técnica de extração na composição química do extrato;
- g) Definição das condições ótimas de extração com CO₂ supercrítico com e sem adição de cossolvente, em termos de rendimento de processo e atividade antioxidante dos extratos;
- h) Estudo da cinética de transferência de massa;
- i) Modelagem das curvas de extração supercrítica das cascas de café utilizando os seguintes modelos disponíveis na literatura: Sovová (1994), Martínez et al. (2003), Crank (1975) apud REVERCHON (1997).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CAFÉ

A planta de café é originária da Etiópia, centro da África, onde ainda hoje faz parte da vegetação natural. Os manuscritos mais antigos que mencionam a cultura do café datam de 575 D. C. no Yêmen, onde os frutos eram consumidos *in natura*. Na Pérsia, no século XVI, os grãos passam a ser torrados e posteriormente consumidos na forma de bebida, como conhecemos atualmente (ABIC, 2011).

O café chegou ao continente europeu em 1615, trazido por viajantes em suas constantes passagens pelo Oriente. Apesar do imenso interesse de países como Alemanha, França e Itália em desenvolver o plantio do café em suas terras, foram os holandeses quem introduziram o cultivo da planta na Europa (ABIC, 2011). Apostando no produto, com mudas procedentes de Moka, os holandeses deram início ao cultivo sistemático do café no ano de 1658, em Java, a leste da Índia – origem da famosa mistura de grãos Mocha-Java, e prosseguiram no Sri Lanka, ilha do oceano Índico. Em 1699, levaram mais mudas para as colônias insulares da Indonésia, Sumatra, Timor, Bali, Malabar e Celebes, e, em 1718, plantaram no Suriname, na América do Sul. Sempre sob controle da Holanda, essas regiões figuram como as primeiras exportadoras de café comercial do mundo. Amsterdã tornou-se poderoso centro difusor do produto (MARTINS, 2008). Ingleses e espanhóis completaram posteriormente, no decurso dos séculos XVIII e XIX, a propagação do café Arábica no continente americano (CARDOSO, 1994).

O café chegou ao norte do Brasil em 1727, trazido da Guiana Francesa pelo sargento-mor Francisco de Mello Palheta a pedido do governador do Maranhão, que o havia enviado às Guianas com essa finalidade.

O café pertence à família das Rubiáceas, sendo considerado uma árvore pequena ou um arbusto perene. É caracterizado por frutos ovóides com cores vermelhas ou amarelas, contendo duas sementes cartilaginosas, envoltas em uma polpa adocicada e comestível. O alto valor desta planta reside quase que exclusivamente na sua semente, com as quais se prepara a bebida denominada café. A espécie *C. arabica* é a mais cultivada no Brasil, sendo o país o maior produtor mundial de frutos desta espécie (SILVA, 2005).

Os principais motivos do consumo da bebida de café têm sido seu efeito estimulante e os saborosos aroma e sabor. Além disso, o café exibe atividade antioxidante e acredita-se que seu consumo moderado reduza o desenvolvimento de alguns tipos de câncer como o de intestino grosso. Sua atividade antioxidante é atribuída à presença de compostos fenólicos, como ácidos clorogênicos, à cafeína e à alguns produtos da reação de Maillard (BUDRYN et al, 2009).

Os compostos fenólicos, além de contribuírem para a formação do sabor e aroma característicos das bebidas de café, são conhecidos em razão das propriedades fisiológicas e farmacológicas que conferem à saúde humana, como a atividade antioxidante. Entre os principais componentes fenólicos estão os ácidos clorogênicos (ACG), que são considerados os mais importantes e os que se apresentam em maior quantidade nos grãos de café, representando cerca de 6-12% em massa do grão. Os ácidos clorogênicos conferem também pigmentação e adstringência à bebida do café (FARAH; DONANGELO, 2006; ABRAÃO et al, 2010; DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010).

Os ácidos clorogênicos e metilxantinas, como a cafeína e trigonelina, têm sido objetos de estudo, visto os potenciais efeitos biológicos positivos que exercem em seres humanos (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010).

3.1.1 Casca de café

A grande produção e consumo de café no país levam também a geração de uma enorme quantidade de resíduos. De acordo com Badocha et al (2003), a quantidade de casca de café gerada durante o processamento é equivalente ao total de grãos beneficiados. Apesar da grande quantidade de resíduos gerados no meio agrícola e agroindustrial, apenas uma pequena porcentagem é aproveitada em razão do desconhecimento do potencial energético e pela falta de equipamentos apropriados para sua utilização. Da geração dos resíduos agrícolas no Brasil, a casca de arroz, o bagaço de cana e a casca de café são os predominantes (MAGALHÃES et al, 2008).

No Brasil, estima-se que sejam produzidas em torno de 30 milhões de sacas de casca de café anualmente, quase o equivalente à produção dos grãos de café, resíduo que este que é considerado um problema ambiental (SOCCOL, 2002).

A casca de café, principal resíduo do beneficiamento do café, normalmente é empregada na alimentação de ruminantes. No entanto, ela é considerada antinutricional devido à presença de substâncias

tóxicas a estes animais, como cafeína, taninos e polifenóis. A cafeína, composto ativo que causa o efeito estimulante do café, está presente na casca numa concentração de 1,3% em base seca (SOCCOL, 2002).

A presença dessas substâncias limita o uso deste resíduo como complemento à alimentação animal, fertilizantes e biocomposto. No entanto, por apresentar uma boa quantidade de açúcares fermentáveis, tem sido considerado um substrato apropriado para o cultivo de fungos e leveduras (SOCCOL, 2002; MURTHY; NAIDU, 2010).

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, sendo que a produção mundial supera os 105 milhões de toneladas por ano. Assim, novos aspectos sobre o uso dos resíduos provenientes do beneficiamento dos grãos de café têm sido explorados, como a aplicação como aditivos alimentares e suplementos de alto valor nutritivo (MURTHY; NAIDU, 2010).

A recuperação de compostos de alto valor agregado a partir dos resíduos agroindustriais tem sido considerada uma atividade economicamente atraente. A estratégia para utilização destes resíduos é construída em torno de produtos fermentáveis e não fermentáveis. Nos processos não fermentativos, as cascas são utilizadas na extração de compostos bioativos. Estes ingredientes naturais contêm compostos fenólicos e/ou com propriedades funcionais, que podem efetivamente ser utilizados para desenvolver alimentos funcionais ou nutracêuticos. As cascas de café contêm quantidades apreciáveis de compostos bioativos, principalmente ácidos clorogênicos, com reconhecida atividade antioxidante (PANDEY et al, 2000; MURTHY; NAIDU, 2010).

3.1.2 Borra de café

Recentemente, a Associação Brasileira da Indústria do Café (ABIC) divulgou dados relativos ao consumo interno brasileiro, no período compreendido entre novembro/2009 e outubro/2010, registrando o consumo de 19,13 milhões de sacas, o que representa um aumento de 4,03% em relação ao período anterior correspondente. O consumo per capita foi de 4,81 kg de café torrado, o equivalente a quase 81 L para cada brasileiro, números que superam o recorde de consumo anterior, registrado em 1965. Sendo assim, o consumo per capita brasileiro aproxima-se do da Alemanha, e já supera o de países como França e Itália, considerados grandes consumidores de café (ABIC, 2011). Sendo assim, é possível estimar a quantidade de resíduo que é gerado a partir do preparo da bebida café, aqui denominado de borra.

Na indústria de café solúvel, para cada tonelada de café verde processada, são gerados 650 Kg de borra; para 1 Kg de café solúvel produzido, são gerados 2 Kg de borra úmida, com 70-80% de umidade. Cabe ressaltar que os resíduos produzidos em escalas menores, como bares, restaurantes, cafeterias e o preparo doméstico, não têm sido contabilizados (VEGRO; CARVALHO, 2006).

O resíduo obtido a partir do tratamento do pó de café com água quente ou vapor ainda não foi utilizado para aplicação industrial, embora seja composto de carboidratos, lipídios e proteínas. Triglicerídios e ésteres de álcool diterpeno são as principais classes de lipídios encontradas na borra de café, e por esta razão, geram a possibilidade do uso de óleo extraído da borra na produção de biodiesel de alta qualidade (COUTO et al, 2009).

Assim como a casca de café, a borra contém cafeína, taninos e polifenóis, porém, em menor quantidade. Mas ainda assim, a presença desses compostos a torna um resíduo tóxico à natureza, limitando seu uso à ração animal, adubo e como combustíveis, em substituição e/ou adição à lenha (VEGRO; CARVALHO, 2006).

O aproveitamento da borra de café como fonte de energia foi estudado em um trabalho desenvolvido junto ao programa de Pós-graduação em Energia da USP. O estudo avaliou desde a captação das borras de café produzidas pelo preparo doméstico da bebida até a extração do óleo da borra. O óleo essencial foi obtido por extração em Soxhlet, utilizando etanol como solvente. Os resultados alcançados demonstram o potencial de utilização do óleo de borra de café como matéria-prima para a produção de biodiesel (SANTOS, 2010; ABIC, 2011).

Segundo Murthy e Naidu (2010), todos os subprodutos e/ou resíduos do processamento de café são ricos em compostos fenólicos, sendo assim, matérias-primas com potencial para obtenção de compostos de alto valor agregado.

3.2 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar significativamente a oxidação de substratos oxidáveis. A importância dos antioxidantes para os alimentos e sistemas biológicos é bem conhecida, uma vez que protegem os mesmos dos processos oxidativos (BISCAIA, 2007). O efeito do antioxidante consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos (ARAÚJO, 2004).

Os compostos fenólicos exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas (como antialérgica, antiarteriofênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora), mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes de matrizes vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas. Dentre esses, estão os tradicionais métodos de extração, como soxhlet, ultrassom e maceração, que utilizam normalmente os solventes orgânicos, e como alternativa pode-se citar também os processos de extração com fluido supercrítico (LEAL et al., 2003; REHMAN; HABIB; SHAH, 2004). Sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (SHAIJI; NACZK, 1995).

Um grande número de plantas aromáticas e medicinais contém compostos químicos que exibem propriedades antioxidantes, e estes efeitos são devidos principalmente aos compostos fenólicos, tais como flavonóides, ácidos fenólicos e diterpenos fenólicos (PIETTA; SIMONETTI; MAURI, 1998; MILIAUSKAS; VENSKUTONIS; VAN BEEK, 2004).

Existem duas categorias básicas de antioxidantes: sintéticos e naturais. De modo geral, os antioxidantes sintéticos são estruturas fenólicas que podem apresentar vários graus de substituintes alquila, enquanto que os naturais são compostos fenólicos, quinonas, lactonas e os polifenóis (ARAÚJO, 2004).

Embora os antioxidantes sintéticos sejam amplamente utilizados pela indústria alimentícia, existem alguns argumentos com relação a sua segurança e efeitos adversos destas substâncias quando usadas como aditivos alimentares; os antioxidantes naturais, como as vitaminas e os polifenóis, podem apresentar papéis importantes na prevenção de doenças associadas aos radicais livres (SOARES; ANDREAZZA; SALVADOR, 2003; ZHENG; WANG, 2001).

Os compostos antioxidantes apresentam basicamente dois mecanismos de ação (ARAÚJO, 2004): bloqueadores da reação em cadeia da oxidação (doadores de hidrogênio) e complexadores com metais.

Além de serem classificados de acordo com o mecanismo de ação que exercem, os antioxidantes classificam-se também em *primários* e *sinérgicos*, com base em suas funções. Os antioxidantes primários, que compreendem os compostos fenólicos poli-hidroxilados e os fenóis com impedimento estrutural, atuam bloqueando a ação dos radicais livres, convertendo-os em produtos mais estáveis por meio da doação de hidrogênios ou elétrons. Já os sinérgicos, classificados genericamente de removedores de oxigênio e complexantes, atuam por meio de vários mecanismos, podendo atuar na regeneração do radical fenoxil, doando hidrogênio, e regenerando um antioxidante primário. A atuação conjunta dos antioxidantes primários e sinérgicos aumenta o controle do processo de oxidação, sendo assim, mais interessante do que a aplicação de cada um dos antioxidantes separadamente (ARAÚJO, 2004).

3.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são considerados os componentes antioxidantes mais importantes presentes em especiarias e em outros materiais derivados das plantas, e existe uma grande correlação entre a concentração de fenólicos e a capacidade antioxidante total (HU; SKIBSTED, 2002).

Estruturalmente, os compostos fenólicos compreendem um anel aromático, tendo um ou mais substituintes hidroxila, e vão desde simples moléculas fenólicas a compostos altamente polimerizados (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Milhares de compostos fenólicos têm sido observados em alimentos de origem vegetal, e podem ser agrupados em diferentes classes de acordo com sua estrutura química básica (tais como tipo e número de anéis fenólicos), e em subclasses diferentes, de acordo com substituições específicas na estrutura básica, associação com carboidratos e formas polimerizadas. A maioria destes compostos destaca-se por apresentar fatores potencialmente protetores contra doenças degenerativas crônicas, câncer e doenças cardiovasculares (FARAH; DONANGELO, 2006).

Apesar da diversidade estrutural dos compostos fenólicos existentes na natureza, os ácidos fenólicos, os taninos e os flavonóides são considerados as principais classes deste grupo de compostos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Os ácidos fenólicos estão reunidos em dois grupos: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzóico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico são compostos fenólicos de

ocorrência natural que possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por três carbonos, ligada ao anel. Os ácidos p-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais comuns na natureza. (BELITZ; GROSCH, 1988; DURÁN; PADILLA, 1993; HARBORNE, 1973). No grupo dos ácidos hidroxibenzóicos, compostos que possuem grupo carboxílico ligado ao anel aromático, destacam-se os ácidos protocatecuico, vanílico, siríngico, gentísico, salicílico, elágico e gálico. Embora outras características contribuam para a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e seus ésteres, esta é geralmente determinada pelo número de hidroxilas presentes na molécula (RAJALAKSMI; NARASIMHAN, 1995).

No café, a atividade antioxidante é geralmente associada ao seu teor de compostos fenólicos, sendo os componentes hidroxicinâmicos os mais abundantes (GÓMEZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2007).

Embora taninos condensados sejam os principais compostos fenólicos presentes na polpa de café, nos grãos de café os compostos predominantes são ácidos fenólicos, mais especificamente os ácidos clorogênicos, que chegam a representar 14% em peso dos grãos. Devido à instabilidade térmica, os ácidos clorogênicos podem ser quase que totalmente degradados em derivados de fenol, quando os grãos de café são submetidos a intensos processos de torrefação (FARAH; DONANGELO, 2006).

Segundo Azuma et al (2000), os ácidos clorogênicos exibem efeitos inibitórios da carcinogênese no intestino grosso, fígado e língua, além dos efeitos protetores contra o estresse oxidativo *in vivo*.

3.2.2 Metilxantinas

Alcalóides são compostos orgânicos contendo pelo menos um átomo de nitrogênio de caráter básico no anel heterocíclico. Quase todos os alcalóides possuem atividade farmacológica, além de possuírem ações fisiológicas muito pronunciadas no organismo, de interesse para os químicos, bioquímicos e farmacologistas (SALDAÑA, 1997).

As metilxantinas são metabólitos secundários, derivados do nucleotídeo purina e conhecidos como alcalóides purínicos. A mais abundante na natureza é a cafeína (1,3,7 trimetilxantina), seguida pela treobomina (3,7 dimetilxantina). A teofilina (1,3 dimetilxantina) e outros compostos se encontram em pequenas quantidades, podendo ser intermediários da biossíntese e/ou catabolismo da cafeína. Estes compostos estão presentes não só no café, mas também no cacau, em chás e no guaraná (ASHIHARA; SUZUKI, 2004).

Entre os princípios ativos presentes no café, a cafeína é, sem dúvida o mais conhecido e discutido. Quando purificada, apresenta-se como um pó branco cristalino muito amargo (AZEVEDO, 2005).

Os mecanismos de ação da cafeína no corpo humano são similares aos das anfetaminas e da cocaína, porém com efeitos mais fracos do que os destas drogas, mas agindo nos mesmos receptores do sistema nervoso central (NEHLIG; BOYET, 2000).

Medicinalmente, a cafeína é utilizada como estimulante cardíaco e diurético, sendo considerada uma substância causadora de dependência física e psicológica (AZEVEDO, 2005).

A cafeína apresenta um efeito vasoconstritor sobre o cérebro e um efeito vasodilatador sobre a circulação sanguínea periférica. O consumo de moderadas doses de cafeína proporciona um efeito estimulante leve, útil no alívio da fadiga, sem oferecer efeitos nocivos (NEHLIG; DAVAL; DEBRY, 1992).

Alguns estudos *in vitro* demonstram que a cafeína, em concentrações milimolares, apresenta efeitos antioxidantes, no entanto, poucos são os relatos desse mesmo efeito em concentrações fisiológicas (GÓMEZ-RUIZ; LEAKE; AMES, 2007; LEE, 2000).

3.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

A crescente demanda de antioxidantes naturais para aplicação em alimentos tem incentivado em todo o mundo a pesquisa sobre a extração de substâncias biologicamente ativas a partir de uma variedade de matérias-primas vegetais (DÍAZ-REINOSO et al, 2006).

A técnica de extração empregada na obtenção de extratos de produtos naturais influencia diretamente sua qualidade e sua composição final. O procedimento de extração é determinado pela família de compostos a ser extraída e se o objetivo é quantitativo ou qualitativo. Ou seja, o rendimento de processo e a composição dos extratos dependem tanto do solvente utilizado como do método de extração aplicado. As diferentes técnicas de extração podem estar baseadas em mecanismos químicos diferentes, como por exemplo, a solubilidade de substâncias no solvente utilizado é função sua polaridade, ou seja, diferentes substâncias serão extraídas de acordo com o grau de polaridade e o solvente utilizado. A característica hidrofílica ou lipofílica do composto a ser extraído afeta sua solubilidade no solvente, e da mesma forma, a polaridade do solvente também tem impacto sobre a eficácia da extração (BISCAIA, 2007; MOURE et al, 2001; TSAO; DENG, 2004).

A extração de substâncias biologicamente ativas pode ser realizada através de técnicas convencionais de extração como ultrassom e a extração Soxhlet. Nestes casos, são utilizados solventes orgânicos tais como etanol, hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona, entre outros. Estas técnicas são comumente aplicadas nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos para a produção de extratos diversos. No entanto, estes processos envolvem uma etapa adicional de eliminação de solventes, que além de aumentar o gasto energético da extração, não é capaz de promover a remoção completa deste, deixando resíduos que podem conferir toxicidade ao extrato (SCALIA; GIUFFREDA; PALLADO, 1999).

A tendência global da busca por tecnologias menos agressivas ao meio ambiente tem impulsionado os estudos e aplicações industriais de tecnologias envolvendo fluidos supercríticos, uma vez que a maioria de suas aplicações pode utilizar como solventes substâncias inofensivas ao meio-ambiente e à saúde humana (PERRUT, 2000).

Como alternativa aos processos convencionais, os fluidos supercríticos apresentam muitas vantagens na extração de produtos naturais. A combinação de propriedades de líquido e gás dos fluidos supercríticos tornam estes solventes particularmente adequados para a extração por difusão em matrizes vegetais (SCALIA; GIUFFREDA; PALLADO, 1999). Além da utilização em escala laboratorial, os fluidos supercríticos são utilizados em escala industrial na descafeinação do café e extração de lúpulo em substituição ao cloreto metileno, na extração e desodorização de óleos vegetais e gordura animal, e na extração e recuperação de aromas de diversas origens, etc (ARAÚJO, 2004).

3.3.1 Soxhlet

O extrator Soxhlet foi desenvolvido em 1879 e esta técnica vem sendo considerada padrão por mais de um século. A extração convencional em Soxhlet apresenta diversas vantagens: a amostra entra em contato com o solvente de extração repetidas vezes, havendo sua constante renovação, o que facilita o equilíbrio da transferência. Além disso, o sistema de extração é mantido em uma temperatura relativamente alta, o que pode contribuir para a extração dos compostos que se encontram nos poros da matriz sólida. Não há necessidade de filtração para separação da matéria-prima do solvente ao término do procedimento, e existe a possibilidade de se realizar várias extrações

simultaneamente, devido ao baixo custo do equipamento (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

As principais desvantagens da extração em Soxhlet em comparação às demais técnicas de extração são o longo tempo de processo, que pode variar de 1 h a 72 h, e a elevada quantidade de solvente empregada, necessitando de uma etapa posterior de eliminação do solvente após a extração, o que exige grande dispêndio de energia, e ainda torna-se um problema ambiental pelo descarte inadequado dos resíduos (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; ARAÚJO, 2004; MELECCHI, 2005). Além disso, a integridade dos compostos extraídos pode ser afetada pela decomposição térmica ou pela reação com o solvente, já que, durante a extração, o recipiente que contém o solvente e os compostos já solubilizados é mantido na temperatura de ebulição do solvente (ARAÚJO, 2004).

3.3.2 Ultrassom

A extração empregando ultrassom é um método que utiliza a energia das ondas sonoras (mecânicas) que são transmitidas em frequência superior à da capacidade auditiva humana. As ondas sonoras se propagam na matéria, em frequências de 20,0 - 100,0 kHz, criando no meio que se propagam ciclos de expansão e compressão, fazendo com que as moléculas do meio se afastem e se aproximem inúmeras vezes (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003).

Estes ciclos de expansão e compressão geram bolhas no interior do líquido empregado no processo, que não podendo mais absorver a energia gerada pelo ultrassom, implodem, criando um efeito chamado cavitação (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003). A cavitação gera mudanças físicas e químicas permanentes aos líquidos, aquecimento e ruptura nos sólidos, e instabilidade na interface de sistemas líquido-líquido e líquido-sólido (MELECCHI, 2005).

A utilização de ultrassom em processos de extração tem chamado cada vez mais a atenção devido à sua maior eficiência e ao reduzido tempo de extração, comparado com as extrações convencionais, tais como em Soxhlet e maceração. As ondas ultrassônicas rompem as paredes celulares presentes na matriz vegetal, aumentando a penetração do solvente e o contato entre as fases soluto/solvente e assim, facilitando a liberação dos extratos (MA et al, 2008).

Os dispositivos mais comuns para aplicação de ondas ultrassônicas são banho e sonda. Apesar de os banhos serem os equipamentos mais utilizados, um fator aponta como principal

desvantagem por dificultar a reprodutibilidade experimental: a falta de uniformidade na distribuição da energia ultrassônica, uma vez que apenas uma pequena fração do volume total de líquido nas imediações da fonte de ultrassom sofre cavitação (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003).

Em escala industrial, o ultrassom tem sido utilizado na limpeza de superfícies, atuando principalmente na descontaminação, uma vez que consegue remover as sujidades dos locais que não podem ser alcançados com os métodos de limpeza tradicionais. É utilizado também como estimulante celular, em processos de polimerização, esterilização, processamento de carnes, entre outras aplicações (MASON; PANIWNKY; LORIMER, 1996; VALERO et al., 2007)

Em relação à extração em Soxhlet, a extração com ultrassom apresenta como vantagens o aumento da polaridade do sistema através da cavitação, levando a um aumento da eficiência de extração; permite a adição de um cossolvente que aumente a polaridade da fase líquida; possibilita a extração de compostos termicamente sensíveis que sofrem alterações nas condições operacionais de extração em Soxhlet e ainda apresenta tempo de operação inferior ao empregado nesta técnica (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003).

Segundo Vinatoru (2001), o emprego do ultrassom pode ser uma importante ferramenta para indústria de extração de fitoquímicos, podendo ser utilizado em pequena ou grande escala.

3.3.3 Extração supercrítica (ESC)

O processo de extração com fluidos supercríticos tem se caracterizado nos últimos anos como uma tecnologia emergente, devido às diversas vantagens em relação aos métodos convencionais de extração, especialmente por ser uma tecnologia limpa e seletiva, a qual leva à obtenção de extratos com composição química diferenciada. No entanto, uma das principais limitações relacionadas ao emprego destes extratos naturais na elaboração de fármacos ou alimentos é a alegada complexidade do processo de avaliação desses, devido à presença de misturas de difícil caracterização (ALMEIDA, 2006; PRADO, 2010).

A crescente demanda por antioxidantes naturais tem fomentado a pesquisa em todo o mundo sobre a obtenção de compostos biologicamente ativos a partir de matérias-primas vegetais. Os processos convencionais de extração utilizando solventes orgânicos são comumente empregados para este fim, no entanto, podem gerar resíduos

indesejáveis e extratos oxidados pelo processo de remoção dos solventes (DÍAZ-REINOSO et al, 2006).

A extração supercrítica pode ser considerada um dos novos métodos de extração potencialmente útil na obtenção de compostos de alto valor agregado, por fornecer extratos livres de solventes e sem o risco de degradação térmica. A seletividade do processo de extração supercrítica pode ser manipulada pela escolha do solvente, pelo controle da pressão e da temperatura do processo, fluxo de solvente e ainda, pelo uso de cossolventes (AGHEL et al, 2004).

A aplicação da extração com fluidos supercríticos teve início na Alemanha, no final dos anos 70, com o processo de remoção da cafeína do café. Até este período, a utilização de fluidos supercríticos era bastante limitada devido às dificuldades em conciliar condições de temperatura e altas pressões com segurança (MAUL, 1999; MELECCHI, 2005). Desde então, o emprego da ESC em processos industriais vem se destacando principalmente pela qualidade dos extratos obtidos e também pelos aspectos ambientais envolvidos: é uma tecnologia limpa, livre de resíduos tóxicos, os extratos não sofrem degradação térmica quando são utilizadas temperaturas amenas, e ainda não é necessário aplicar um tratamento posterior à extração para eliminação de solvente, já que esse é eliminado por meio da despressurização do sistema (MAUL, 1999; MICHIELIN et al., 2005; ALMEIDA, 2006).

Entre 1998 e 2001, 14 plantas foram instaladas na China, Japão e Taiwan (DEL VALLE et al., 2005). No entanto, nenhuma unidade industrial de ESC está localizada na América Latina. O alto custo de instalação quando comparado com equipamentos clássicos operados a baixa pressão ainda é apontado como a principal causa (MEIRELES, 2008).

A extração com fluidos supercríticos é uma operação unitária por contato que se fundamenta no equilíbrio e nas propriedades físico-químicas dos fluidos supercríticos. Esta técnica é particularmente efetiva no isolamento de substâncias de massa molar média e polaridade relativamente baixa (PEREDA; BOTTINI; BRIGNOLE, 2008).

Um fluido supercrítico (FSC) é qualquer substância a uma temperatura e pressão acima de seu ponto crítico termodinâmico (Figura 1). A temperatura crítica (T_c) é a temperatura mais alta, na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica (P_c) é a pressão mais elevada, na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura do líquido (GÓMEZ; OSSA, 2002; FREITAS, 2007). A área em torno do ponto crítico de um

componente (ou de uma mistura) pode ser chamada de “região crítica”, abrangendo condições sub e supercrítica. As propriedades do fluido supercrítico com maior importância para a extração são a densidade, a viscosidade e o coeficiente de difusão, os quais tomam valores que se aproximam dos valores dos líquidos, no caso da densidade e que se aproximam dos gases, no caso da viscosidade. Nas proximidades do ponto crítico é onde se produzem com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações na densidade do fluido supercrítico e por consequência do seu poder solvente (BRUNNER, 1994).

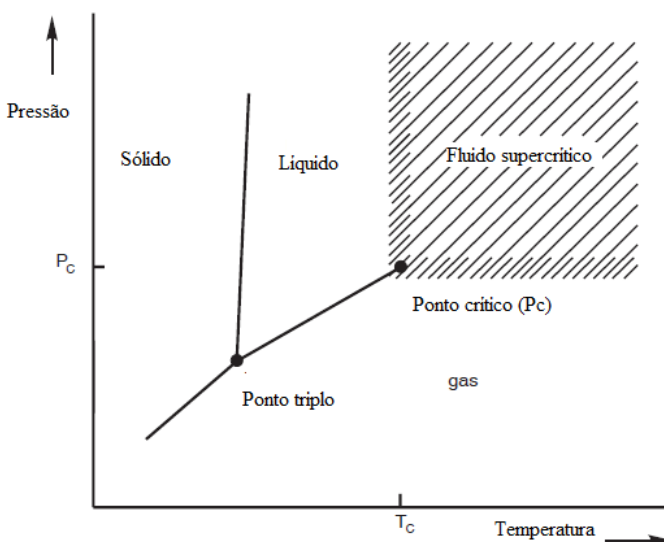


Figura 1: Diagrama pressão-temperatura para um componente puro (Adaptado de MUKHOPADHYAY, 2000).

A extração utilizando fluido supercrítico pode reduzir e até mesmo evitar a maioria dos danos causados pelos métodos convencionais de extração. Dentre as vantagens da extração supercrítica, podemos citar (MAUL, 1999; MUKHOPADHYAY, 2000):

a) Os solventes empregados são gasosos à pressão atmosférica e à temperatura ambiente, permitindo que após a extração eles sejam facilmente separados por completo dos extratos e recuperados;

b) A maioria dos gases supercríticos utilizados é fisiologicamente segura e inerte;

c) A separação de materiais é feita a baixas temperaturas, o que é extremamente importante quando são extraídas substâncias naturais que são termicamente sensíveis;

d) Os extratos quase não sofrem hidrólise, oxidação, esterificação, caramelização ou alterações térmicas, representando de melhor forma o material original;

e) A força solvente é ajustada via compressão mecânica;

f) A adição de cossolventes permite a extração diferencial de solutos não polares até solutos de alta polaridade e ainda aumenta a solubilidade do material a ser extraído;

g) Os solventes podem ser reutilizados, reduzindo o custo operacional.

Os extratos obtidos por ESC são considerados naturais e têm permissão para aplicação em alimentos, uma vez que apresentam “status GRAS (Generally Recognized As Safe)”. Além disso, o alto gradiente de pressão entre a coluna de extração e a saída do extrator pode produzir extratos livres de micro-organismos e esporos, com maior vida útil quando comparados aos extratos obtidos por processos a baixa pressão (DÍAZ-REINOSO et al, 2006).

O CO₂ supercrítico é o solvente mais comumente utilizado nos processos de extração supercrítica, devido às suas vantagens práticas: caráter não-tóxico e não inflamável, é ambientalmente seguro, apresenta alta disponibilidade e alcança alto grau de pureza a baixo custo (DÍAZ-REINOSO et al, 2006).

O dióxido de carbono supercrítico apresenta algumas particularidades que o torna atrativo para o processo de extração (MAUL, 1999):

a) Sua temperatura crítica é de 31,04° C, assim, as extrações podem ser conduzidas a uma temperatura suficientemente baixa de forma a não comprometer as propriedades químicas e organolépticas dos extratos;

b) A pressão crítica de 78,3 bar é facilmente obtida e permite trabalhar em um processo de produção industrial;

c) Por ser um gás inerte, não oferece riscos de reações de oxidação, redução, hidrólise e degradação química;

d) É um gás seguro, não explosivo, não poluente, não tóxico, de uso significativo na gaseificação de bebidas;

e) Apresenta polaridade próxima à do pentano e do hexano, solventes apolares comumente utilizados em extrações tradicionais com solventes;

f) É um gás versátil, já que os parâmetros de extração podem ser facilmente modificados pela adição de modificadores (cossolventes) polares ou apolares, e também pela seleção das condições de temperatura e pressão de operação do sistema de extração;

g) Compostos lipofílicos, como hidrocarbonetos, éteres, ésteres, cetonas e aldeídos são facilmente extraídos.

O CO₂ supercrítico é mais apropriado como solvente nas extrações de compostos de alto valor agregado provenientes de produtos naturais. Devido a sua característica apolar, é mais indicado adequado para a extração de antioxidantes como carotenóides e outros relativamente lipofílicos. No caso dos antioxidantes polifenólicos, com características polares e conseqüentemente menos solúveis no CO₂, é necessário o uso de cossolventes a fim de melhorar o processo de extração (TSAO; DENG, 2004; DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

A extração supercrítica consiste basicamente de duas etapas: solubilização dos compostos presentes na matriz sólida e separação desses do solvente supercrítico. Durante a extração, o solvente flui através do leito de partículas, solubilizando os compostos presentes na matriz vegetal. O solvente sai do extrator carregando as substâncias solubilizadas, e por meio da redução da pressão, o extrato é liberado do solvente (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

Segundo Brunner (1994) o processo de solubilização de compostos de uma matriz vegetal divide-se em vários passos:

a) A matriz vegetal absorve o solvente supercrítico, inchando a estrutura das células, as membranas celulares e dilatando os canais intercelulares, fazendo com que a resistência à transferência de massa diminua;

b) Em paralelo, ocorre a dissolução dos compostos do extrato que podem ser extraídos pelo solvente;

c) Ocorre a transferência por difusão dos compostos solubilizados de dentro do sólido até a sua superfície;

d) Os compostos solubilizados atingem a superfície externa;

e) Os compostos solubilizados são transportados da superfície para o solvente supercrítico e são removidos com o solvente.

3.3.3.1 Curvas de extração

A otimização de um processo industrial de ESC requer o conhecimento de dados termodinâmicos (solubilidade e seletividade) e dados cinéticos (taxa de transferência de massa) (FERREIRA et al., 1999).

A representação da cinética da ESC é feita através da construção da curva de extração, que normalmente é apresentada como um gráfico da massa acumulada de extrato em função do tempo de extração. A curva obtida depende dos parâmetros de processo e dos fenômenos que ocorrem no leito fixo durante a extração. São vários os fatores que afetam o comportamento das curvas de extração, como por exemplo, vazão de solvente utilizada, tamanho da partícula formadora do leito. Desta forma, é difícil fazer a comparação entre curvas obtidas a partir de matérias-primas diferentes e de diferentes equipamentos, mas as informações que ela pode fornecer, como a duração da taxa constante de extração, são úteis para comparar uma série de experimentos com o mesmo substrato e o mesmo equipamento (BRUNNER, 1994).

De acordo com a literatura, as curvas de extração são divididas em três períodos, controlados por diferentes mecanismos de transferência de massa (FERREIRA; MEIRELES, 2002; CAMPOS et al., 2005; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009):

a) Etapa com taxa constante de extração (CER): a superfície externa da partícula está coberta com o soluto, que é chamado “soluto de fácil acesso”. Neste período a convecção é o mecanismo dominante e, portanto, a resistência à transferência de massa está na fase fluida;

b) Etapa com taxa decrescente de extração (FER): falhas na cobertura de soluto sobre a superfície externa começam a aparecer, dando início à difusão do soluto presente no interior da partícula. Nesta etapa os mecanismos de transferência de massa por difusão e por convecção ocorrem simultaneamente;

c) Etapa difusional: a camada externa de soluto praticamente desaparece. A transferência de massa se dá por difusão do interior das partículas do substrato. Neste período a resistência à transferência de massa está na fase sólida. A representação esquemática de uma curva de extração é apresentada na Figura 2.

A representação da curva de extração pode ser utilizada na determinação de parâmetros de processo, tais como tempo de extração, caracterização das etapas de extração supercrítica e determinação da

solubilidade, como também na modelagem da transferência de massa do sistema (SILVA, 2004).

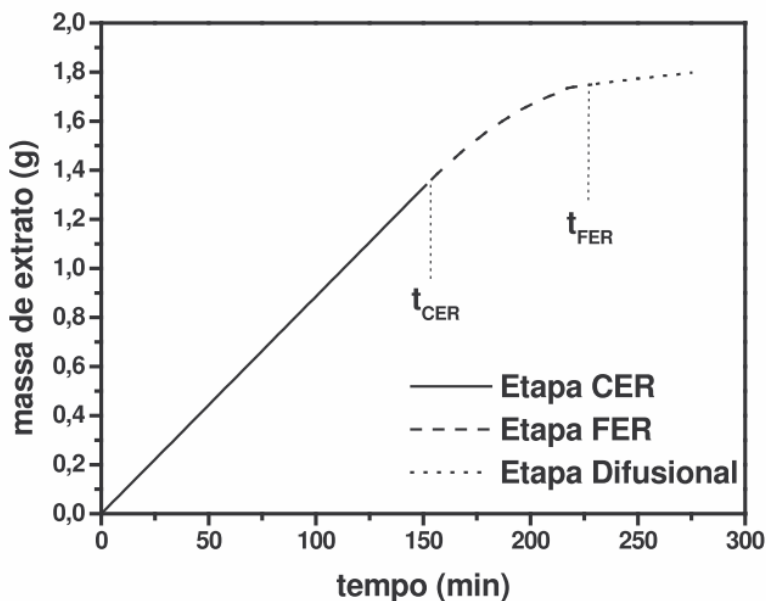


Figura 2: Representação da curva de ESC apresentando as 3 etapas da extração (MARTÍNEZ, 2005).

3.4 MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática de dados experimentais de ESC tem como principal objetivo a determinação de parâmetros para *design* de processo, tais como dimensões de equipamentos, vazão de solvente e tamanho de partícula. A obtenção de tais parâmetros torna possível a predição da viabilidade econômica do processo de ESC em escala industrial, através de estudos de simulação das curvas de extração (MARTÍNEZ et al., 2003).

A literatura dispõe de diversos modelos matemáticos para descrição do processo de extração supercrítica. Os modelos podem ser empíricos ou baseados no balanço de massa no leito de extração, sendo que devem refletir a visão física da estrutura sólida e das observações experimentais. A principal diferença entre os modelos encontrados na literatura reside na interpretação dada para os fenômenos que ocorrem

no processo de extração e na possibilidade de negligenciar alguns deles (MARTÍNEZ et al., 2003).

Entre os inúmeros modelos de transferência de massa empregados na modelagem das curvas de extração utilizando CO₂ supercrítico foram selecionados três modelos para aplicação neste trabalho: o modelo difusional de Crank (1975), que faz analogia à transferência de calor, e os modelos de Sovová (1994) e o modelo logístico de Martínez (2003), baseados no balanço de massa diferencial. A descrição detalhada dos modelos consta no Apêndice I.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir são descritos os materiais e métodos utilizados na determinação das condições de operação do processo de obtenção dos extratos de casca e de borra de café, assim como a modelagem matemática dos dados obtidos experimentalmente, avaliação da atividade antioxidante e o perfil de composição dos extratos.

4.1 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

O resíduo do preparo da bebida de café (*Coffea arabica*, marca Café Damasco), denominado borra de café, foi coletado na Cantina do CCS, localizada no Centro de Ciências da Saúde, no campus da Universidade Federal de Santa Catarina, pelo período de quatro dias. Ao final do período de coleta, a borra de café foi homogeneizada a fim de se obter uma amostra uniforme. Após esta etapa, a matéria-prima foi separada em pequenas porções e acondicionada em embalagens de polietileno, sendo posteriormente armazenada em refrigerador, a -2°C , até o momento da secagem.

As cascas de café foram gentilmente cedidas pela Fazenda Tulha, localizada em Guaxupé, Minas Gerais. A colheita do café foi iniciada quando os frutos atingiram o estágio máximo de maturação, denominado “cereja”. Foi então realizada a lavagem e separação do café cereja, em frutos maduros e verdes. Os frutos maduros passaram por um despulpador com a finalidade de separar a casca dos grãos de café, envolvidos pelo pergamínio e mucilagem. Esta casca seguiu para a secagem em terreiro, a temperatura ambiente, entre 14°C e 30°C , até que a umidade final desejada fosse alcançada. Após o recebimento no laboratório (LATESC), a matéria-prima, que estava acondicionada em um saco de ráfia (Figura 3), passou por um processo de seleção, em que foram removidos resíduos de folhas, flores e pedregulhos. Ao final desta etapa, as cascas de café foram também acondicionadas em embalagens de polietileno e armazenadas nas mesmas condições estabelecidas para a borra de café.



Figura 3: Casca de café *in natura* no recebimento

4.2 PRÉ-TRATAMENTO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

4.2.1 Borra de café

As amostras de borra de café coletadas, com umidade inicial de 75%, foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) por 5 horas a 45°C. Após a secagem, a matéria-prima foi acondicionada em embalagens de polietileno e armazenada em freezer doméstico, a -18° C, até a realização dos experimentos. A Figura 4 mostra a matéria-prima antes e após o pré-tratamento.

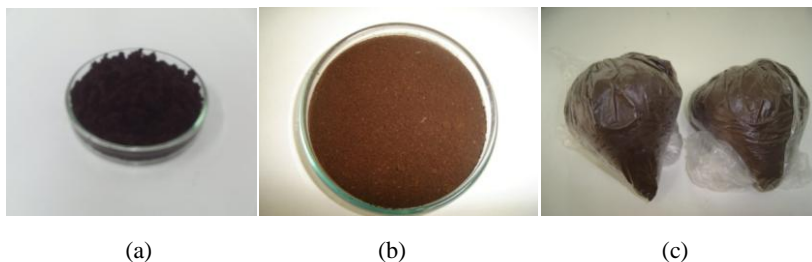


Figura 4: (a) borra de café úmida; (b) submetida à secagem; (c) acondicionada em embalagem plástica.

4.2.2 Casca de café

As cascas de café selecionadas não foram submetidas ao processo de secagem em estufa, pois, como etapa de processamento dos grãos, as cascas já são submetidas à secagem ao sol, no próprio local de colheita. Após a seleção, a matéria-prima foi triturada em moinho de facas (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil). Uma parte dessa amostra, 300 gramas, foi acondicionada em embalagem plástica, identificada e armazenada em freezer doméstico. O restante da matéria-prima foi submetido à separação e classificação granulométrica em agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda., Caieiras/SP, Brasil), com a finalidade de fracionar a matéria-prima em diferentes tamanhos de partícula. Aproximadamente 100 g de amostra foram utilizadas em cada batelada, utilizando-se as peneiras da série Tyler de mesh 20, 25, 32, 48, 65, 80 e fundo. Assim, o conjunto foi agitado por 20 minutos. As frações retidas em cada peneira foram acondicionadas separadamente em embalagens plásticas, devidamente identificadas, e mantidas congeladas em freezer doméstico, a -18°C , até a realização dos experimentos. A Figura 5 mostra a matéria-prima antes e após o pré-tratamento.



Figura 5: (a) casca de café *in natura*; (b) moída; (c) acondicionada em embalagem plástica.

4.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS.

A determinação do teor de umidade e de substâncias voláteis para a borra e casca de café foi realizada conforme o método 925.09 da AOAC (2005), cujo procedimento fundamenta-se na perda de umidade e substâncias voláteis quando a amostra é submetida a 105° C.

A massa de cada amostra foi determinada em balança analítica (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil), sendo 5 g de cada amostra colocados em cápsulas de alumínio taradas, previamente aquecidas em estufa (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) a 105 ° C por 1 h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e as massas foram então medidas. Posteriormente, as amostras foram colocadas em estufa a 105 ° C por 3 horas, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e as massas medidas novamente. Repetiram-se essas operações de aquecimento e resfriamento em intervalos de meia hora, até massa constante. Para o cálculo do teor de umidade e voláteis, foi utilizada a Equação 1.

$$\text{Teor de umidade e voláteis (\%)} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

em que m_i é a massa inicial da amostra (g) e m_f é a massa final da amostra (g).

A determinação de umidade e substâncias voláteis da borra e da casca de café foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS DA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA.

4.4.1 Determinação do diâmetro médio de partícula

O diâmetro médio das partículas de casca e de borra de café foi determinado através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As análises de MEV foram realizadas em microscópio JEOL JSM-6390LV, no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), da Universidade Federal de Santa Catarina. Micrografias com aumento de 200 até 1500 vezes foram obtidas. O diâmetro médio de partícula de cada matéria-prima foi calculado a partir das micrografias, utilizando-se para tal o *software* Size Meter versão 1.1 (Luis Henrique Castelan Carlson, LCP/EQA/UFSC, SC, Brasil).

4.4.2 Determinação da massa específica aparente (ρ_a)

A massa específica aparente das partículas de casca e de borra de café foi determinada por meio da relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações e o volume do leito.

4.4.3 Determinação da massa específica real (ρ_r)

A massa específica real foi determinada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC), utilizando-se a técnica de picnometria em gás Hélio, que segue o princípio de Arquimedes de deslocamento de fluidos, com o uso do equipamento Accu Pyc II 1340 da Micromeritics (Figura 6). A utilização dessa técnica em geral apresenta bons resultados, uma vez que o gás Hélio penetra nos poros da matriz vegetal devido a sua baixa tensão superficial sem alterar as características das partículas.

4.4.4 Porosidade do leito

Para a formação do leito de partículas utilizou-se aproximadamente 15 g de amostra, tanto na obtenção de extratos de casca quanto de borra de café. A porosidade do leito foi determinada por meio da Equação 2, que relaciona a massa específica real (ρ_r) e a massa específica aparente (ρ_a).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (2)$$

4.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA DO SOLVENTE SUPERCRÍTICO.

A massa específica do CO₂ supercrítico (ρ) nas condições de operação planejadas foi determinada através da equação de Angus, Armstrong e De Reuck (1976). Este valor foi aplicado na avaliação da influência da temperatura e pressão na variação da massa específica do solvente e também na aplicação do modelo de transferência de massa descrito por Sovová.



Figura 6: Picnômetro acoplado ao cilindro de gás hélio.

4.6 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE

A solubilidade é definida como a máxima concentração de soluto (extrato de casca ou de borra de café) dissolvido na fase solvente, na saída do extrator, para uma dada condição de temperatura e pressão de operação. Para isto, a coluna de extração deve ser suficientemente longa ou a vazão de solvente suficientemente baixa, de modo a garantir um tempo de contato suficiente entre as fases, permitindo a saturação do solvente com o óleo na saída do extrator. Para a aplicação do modelo de transferência de massa de Sovová (1994), a solubilidade é um parâmetro termodinâmico essencial.

Neste trabalho, utilizou-se a solubilidade da cafeína pura em CO₂ (7×10^{-4} g/g CO₂), nas mesmas condições de pressão e temperatura em que as extrações foram realizadas, retirada da literatura (GUPTA; SHIM, 2007).

4.7 EXTRAÇÕES À BAIXA PRESSÃO

Os processos de extração a baixa pressão, que incluem o emprego de diferentes solventes orgânicos foram realizados a fim de compará-los com o processo de extração supercrítica, em termos de rendimento dos extratos, atividade biológica e composição em termos de compostos fenólicos e metilxantinas. O resultado das extrações a baixa pressão em termos de rendimento e qualidade dos extratos possibilitaram a seleção do cossolvente para ser utilizado na extração supercrítica.

Os extratos obtidos após a extração em Soxhlet e com ultrassom passaram por um processo de eliminação de solvente, em evaporador rotativo (Mod. 550 e 802, Fisatom, São Paulo/SP, Brasil) com arrefecimento (MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC, Brasil) e controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica Piracicaba/SP, Brasil). As temperaturas de evaporação foram ajustadas para valores inferiores aos pontos de ebulição dos solventes utilizados, a fim de evitar alterações do extrato devido à aplicação de calor, e o vácuo ajustado em 650 mmHg.

4.7.1 Extração em Soxhlet

A extração em Soxhlet foi realizada segundo o método 920.39C da AOAC (2005), utilizando-se os seguintes solventes orgânicos: hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol. A Tabela 1 apresenta o índice de polaridade desses solventes.

Tabela 1: Índice de polaridade dos solventes orgânicos utilizados na extração em Soxhlet.

Solvente	Índice de polaridade
Hexano	0
Diclorometano	3,1
Acetato de etila	4,4
Etanol	5,2

Fonte: BYERS, 2007.

O sistema de extração em Soxhlet é composto de um extrator, acoplado na extremidade inferior a um balão de 250 mL, e na parte superior, a um condensador (Figura 7). Para cada extração, 5 g de amostra foram acondicionados em cartucho de papel filtro, e este foi inserido no extrator. Foram utilizados 150 mL de solvente selecionado, que foi colocado no balão e aquecido até a sua respectiva temperatura de ebulição, por meio de uma manta de aquecimento. O processo de extração teve duração de 6 h.

As extrações foram realizadas em duplicata, e os extratos, obtidos após a evaporação do solvente, foram acondicionados em frascos âmbar e armazenados a -18°C , em *freezer* doméstico.



Figura 7: Equipamento para extração em Soxhlet.

4.7.2 Extração com ultrassom

A extração com ultrassom consiste na utilização de diferentes solventes orgânicos, a temperatura ambiente, para promover a extração de determinados compostos a partir da aplicação de ondas ultrassônicas. O método de extração foi realizado conforme Jacques (2005) e Vinatoru (2001), em que 7 g de amostra foram adicionados a 210 mL de solvente, acondicionados em balão de 250 mL. O balão foi acoplado a um

condensador de bolas, e este, por sua vez, conectado a um banho refrigerado. O conjunto foi submetido a banho indireto em ultrassom utilizando-se uma lavadora ultrassônica, por 2 h. Os solventes utilizados foram os mesmo empregados na extração em Soxhlet: hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol.

Após o tempo de extração estabelecido, o sistema foi filtrado e realizou-se a eliminação dos solventes, conforme descrição no item 4.7. Em seguida, os extratos, acondicionados em frascos âmbar, foram armazenados em *freezer* doméstico, a -18° C. As extrações foram realizadas em duplicata e os resultados dos rendimentos expressos como média \pm desvio padrão.

4.8 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (ESC)

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados no LATESC, no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC, onde se encontra disponível uma unidade de extração que opera até uma pressão máxima de 300 bar e vazões de solvente de 1,67 g/min a 36,67 g/min.

A unidade de extração supercrítica foi empregada para a determinação do rendimento global de extração, com o emprego de dióxido de carbono puro ou com cossolvente, e também para a obtenção das curvas de extração necessárias para a aplicação e comparação com os modelos matemáticos importantes para a avaliação das condições ótimas de operação que forneçam extratos com melhores atividades biológicas e rendimento satisfatório.

O método dinâmico de extração supercrítica foi empregado nos experimentos cinéticos e na determinação do rendimento global de extração. O método dinâmico é caracterizado pela passagem contínua do solvente supercrítico pela matriz sólida (FERREIRA, 1999).

Testes cinéticos preliminares foram realizados a fim de se estabelecer condições de extração, tais como vazão de solvente a ser utilizada e massa de amostra necessária para a formação do leito.

A verificação da influência da pressão e da temperatura no rendimento global de extração foi realizada através de um planejamento experimental com 3 níveis e 2 variáveis. As variáveis a serem analisadas são pressão, nos níveis 100, 200 e 300 bar, e temperatura, nos níveis 40° C, 50° C e 60° C. Na melhor condição de operação, levando-se em conta rendimento e atividade biológica, foi testado o uso do cossolvente, sendo esse escolhido com base nos resultados de rendimentos obtidos nas extrações convencionais.

4.8.1 Determinação do rendimento global de extração (X_0)

O rendimento global de óleo (X_0) é a quantidade de óleo extraível presente na matriz sólida (casca e borra de café) referente a uma dada temperatura e pressão de extração. O tempo de extração foi definido através da observação da curva de extração obtida no teste preliminar, a 200 bar, 50 ° C e vazão de solvente de 11,6 g/min, sendo de 4 horas e 30 minutos para a casca de café e de 2 horas e 30 minutos para a borra de café, totalizando um consumo de 3,15 kg de CO₂ e 1,75 kg de CO₂, respectivamente.

Através de um planejamento experimental fatorial 3², foram avaliados os efeitos de dois parâmetros de processo, pressão e temperatura, em três níveis conforme mostra a Tabela 2, totalizando 9 experimentos. A matriz do planejamento experimental foi obtida com auxílio do software STATISTIC for Windows versão 6.0.

Tabela 2: Planejamento experimental fatorial completo 3² com as variáveis temperatura (T) e pressão (P), variando em três níveis.

Experimento	Variáveis codificadas de T	Variáveis codificadas de P	Variáveis reais de T	Variáveis reais de P
1	-1	-1	40	100
2	-1	0	40	200
3	-1	+1	40	300
4	0	-1	50	100
5	0	0	50	200
6	0	+1	50	300
7	+1	-1	60	100
8	+1	0	60	200
9	+1	+1	60	300

Os experimentos para cada uma das amostras foram realizados em duplicata, com a mesma altura de leito (7,3 cm) utilizando 15 g de matéria-prima. As extremidades da coluna foram revestidas com algodão de forma a evitar a entrada de partículas sólidas na linha de extração, sendo que o espaço restante do leito foi preenchido com esferas de vidro (na entrada na coluna, antes da matéria-prima).

Os frascos contendo os extratos foram medidos em balança analítica e armazenados em freezer a -18 °C até a realização dos ensaios para verificação de atividade biológica.

O rendimento global (X_0) foi calculado através da razão entre a massa de extrato (m_{extrato}) obtida e a massa de matéria-prima (m_{inicial}) utilizada para formar o leito conforme a Equação 3. Esta mesma equação foi utilizada para o cálculo dos rendimentos obtidos nas extrações à baixa pressão:

$$X_0(\%) = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{inicial}}} \quad (3)$$

4.8.2 Experimentos cinéticos – Curvas de extração e parâmetros cinéticos.

Os experimentos cinéticos para a obtenção das curvas de extração foram realizados apenas com as amostras de casca de café, utilizando 15 g de matéria-prima, medidos em balança analítica (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil), com precisão ao décimo de miligrama. A massa de matéria-prima a ser utilizada foi definida de forma que o leito formado apresentasse uma altura de pelo menos o dobro do diâmetro do extrator, considerando que, com essa relação entre altura e diâmetro do leito, a dispersão axial seja desprezada. As massas dos frascos de coleta foram previamente medidas em balança analítica (AY220, SHIMADZU do Brasil Ltda., São Paulo/SP, Brasil), com precisão ao décimo de miligrama, e a coleta dos extratos foi realizada em intervalos de tempo pré-determinados. Após a coleta, as massas dos frascos foram medidas novamente, de modo a determinar a massa de extrato obtida em função do tempo de extração. As curvas de extração podem ser construídas através da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração ou da massa de CO₂ consumido, ou ainda pelo rendimento de extração *versus* a razão massa de solvente por massa de amostra (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009; MICHIELIN, 2009).

Os experimentos cinéticos foram realizados utilizando CO₂ puro em três condições de vazão de solvente (7 ± 2 g/min, 12 ± 2 g/min e 17 ± 2 g/min) e três diâmetros de partícula (0,03 cm; 0,05 cm; 0,063 cm) mantendo-se constantes as demais condições de pressão (100 bar), temperatura (40 °C). Os valores experimentais de massa de extrato

acumulada *versus* tempo de extração, obtidos na curva da extração supercrítica de casca de café são apresentados no Apêndice II.

Os tempos de cada um dos períodos de extração foram calculados a partir das curvas de extração. Os tempos t_{CER} e t_{FER} representam o final das etapas constante e decrescente de extração, respectivamente. A taxa de transferência de massa na etapa CER (M_{CER}) foi obtida a partir de regressão linear da curva de extração no período CER, realizada com auxílio do *software* Microsoft Excel, enquanto a concentração de soluto na fase solvente na etapa CER (Y_{CER}) foi determinada pela razão entre M_{CER} e Q_{CO_2} .

4.8.3 Emprego de cossolvente

Para a adição de cossolvente junto à extração supercrítica, uma bomba de cossolvente (BC) (Constametric 3200, SP Thermo Separation Products, USA) foi acoplada ao equipamento de extração supercrítica. Após a bomba de cossolvente há uma válvula de retenção (VR) que evita o retorno do solvente orgânico para a BC, caso haja um aumento na pressão da bomba de CO_2 durante o experimento. A bomba de cossolvente trabalha numa faixa de vazão de 0,1 a 10 mL/min (CAMPOS et al., 2005) Utilizou-se como cossolvente o álcool etílico (P.A.) em frações de 4 e 8 % (m/m) para a extração de casca de café, e 8% e 15% (m/m) para a borra de café. Este solvente foi selecionado com base nos resultados de rendimento das extrações em Soxhlet e com ultrassom e em dados da literatura.

4.9 MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática foi desenvolvida a fim de avaliar a influência dos parâmetros do processo e da abordagem de cada modelo ao ajuste das curvas experimentais de extração supercrítica. A subrotina BOBYQA, que elimina a necessidade do emprego de derivadas, foi usada na aplicação dos modelos de transferência de massa de Martínez et al. (2003), Sovová (1994), e no modelo de analogia à transferência de calor de Crank (1975), segundo Martínez e Martínez (2008).

Os parâmetros necessários para a aplicação dos modelos de transferência de massa foram determinados experimentalmente ou calculados a partir de dados experimentais, ou ainda obtidos a partir de dados da literatura, como o valor da solubilidade do extrato de café em solvente supercrítico.

4.10 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação do teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos de casca e de borra de café foi realizada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) através do método de Folin-Ciocalteu (ROSSI; SINGLETON, 1965; PESCHEL et al., 2006).

Inicialmente, foi necessário construir uma curva padrão de ácido clorogênico, a fim de representar a absorvância da amostra frente à concentração da curva padrão. Preparou-se uma solução estoque de 0,005 g/mL de ácido clorogênico em água destilada, e a partir desta solução estoque, são diluídas alíquotas em balões volumétricos de 100 mL para a obtenção de soluções de concentrações finais de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 350 e 500 mg/L. A reação de oxidação foi realizada em balões volumétricos de 10 mL, sendo transferidos para estes 100 µL de cada uma das diluições, ao quais foram adicionados 2 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu. Após 30 s e antes de 8 min após a adição do reativo, foi adicionado 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio a 20 % (m/v). Os balões foram completados com água destilada até a marca de 10 mL, agitados e deixados em repouso ao abrigo da luz e a temperatura ambiente por 2 h para que a reação ocorresse. A absorvância de cada uma das soluções foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP) e o branco foi realizado com água destilada. A curva padrão de ácido clorogênico foi representada através do gráfico de absorvância *versus* concentração de ácido clorogênico (mg/L) e está apresentada no Apêndice III.

Os extratos avaliados foram diluídos em álcool etílico absoluto P.A. na concentração final de 1667 mg/L, e seguiu-se o mesmo procedimento de reação de oxidação descrito para a curva padrão de ácido clorogênico. Os valores de absorvância encontrados para cada tipo de extrato foram correlacionados com a curva padrão, e o teor de compostos fenólicos totais (TFT) foi determinado através da Equação 4. Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados expressos em mg de EAC/g de extrato, como média ± desvio padrão.

$$TFT (mgEAC/g) = \left\{ \frac{EAC \cdot 1000}{D_{extrato}} \right\} \quad (4)$$

Sendo:

EAC: equivalente em ácido clorogênico, obtido através da curva padrão (mg EAC/L);

D: diluição da amostra (mg extrato/L).

4.11 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.11.1 Método DPPH

A técnica de determinação de atividade antioxidante pelo método DPPH constitui na reação do composto em análise em uma solução etanólica de DPPH na concentração de 0,3 mM e com concentrações crescentes (5, 10, 25, 50, 125, 250 e 500 mg/mL) dos extratos analisados (casca e borra de café), por 30 min, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Decorrido o tempo de reação, faz-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP). Quanto maior a atividade antioxidante da amostra testada, mais estável o radical DPPH se torna, provocando a descoloração da solução (DPPH e extrato) e diminuindo a absorbância. Assim, o percentual de inibição das amostras testadas sobre o radical pode ser calculado convertendo-se a absorbância em percentual de atividade antioxidante (AA %), segundo a Equação 5:

$$AA(\%) = 100 - \left[\frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \cdot 100}{Abs_{controle}} \right] \quad (5)$$

A concentração das amostras necessárias para reagir com 50% do radical livre DPPH (EC_{50}) é calculada por análise de regressão linear (MENSOR et al., 2001). Os resultados encontrados de concentração efetiva (EC_{50}) e atividade antioxidante (AA %) para os extratos analisados foram calculados a partir de valores médios de absorbância de cada concentração.

4.11.2 Método ABTS

A atividade antioxidante dos extratos de casca e de borra de café foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Re et al. (1999). Utilizou-se o Trolox, vitamina E sintética (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, EUA) como antioxidante referência, que foi preparado em etanol e estocado como solução padrão. O ABTS foi dissolvido em água até a concentração de 7,0 mM, e submetido à reação com 2,45 mM de

persulfato de potássio para a formação do radical. A mistura ficou no escuro à temperatura ambiente de 12 a 16 horas antes do uso. A solução do radical ABTS·+ foi diluída em etanol até uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 754 nm. As leituras foram feitas em espectrofotômetro, para o tempo de 6 minutos após a adição da amostra na solução de ABTS·+. A partir das leituras realizadas a porcentagem de inibição do radical foi calculada através da Equação 6:

$$\% \text{ Inibição} = 1 - \left[\frac{Abs_f}{Abs_0} \right] \cdot 100 \quad (6)$$

Onde: Abs_f é a absorbância após a adição da amostra ao radical ABTS para o tempo de 6 minutos e Abs_0 é a absorbância do radical.

Uma curva padrão foi plotada em função da porcentagem de inibição do radical ABTS pelas diferentes concentrações de Trolox ($\mu\text{M/mL}$). Após a obtenção do percentual de inibição do respectivo extrato a atividade antioxidante (AA) foi calculada através da Equação 7 com base na curva padrão de Trolox. A curva padrão de Trolox é apresentada no Apêndice III.

$$AA = \left[\frac{C_a}{C_e} \right] \quad (7)$$

Onde: C_a é a concentração ($\mu\text{M/mL}$) referente ao percentual de inibição obtido através das leituras espectrofotométricas do extrato e C_e é a concentração do extrato utilizada na técnica.

Desta forma, os resultados foram expressos em $\mu\text{M TEAC}$ (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox) por g de extrato.

4.12 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E METILXANTINAS

A composição dos extratos de casca e de borra de café, em termos de compostos fenólicos e metilxantinas, foi determinada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), realizada no Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal, no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Catarina.

A composição dos extratos de casca e borra de café foi determinada através de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) (Shimadzu LC-10, Kyoto, Japan), usando uma coluna C18 Shim-pack (com diâmetro interno de 4,6 mm e comprimento de 250 mm). Para a determinação da composição de fenólicos, diluiu-se

5 mG de extrato em 1 mL de etanol, no caso dos extratos obtidos por ESC, e a mesma quantidade de amostra em 1mL do respectivo solvente de extração, no caso das extrações a baixa pressão (Soxhlet e ultrassom). Uma alíquota de 10 μ L de cada solução foi injetada na coluna de CLAE termostaticada a 40 °C, utilizando a fase móvel composta de acetonitrila/ácido fórmico 0,1% (15:85, v/v) escoando com vazão de 0,8 mL/min. O mesmo procedimento foi adotado para a quantificação das metilxantinas, com exceção dos extratos obtidos por ESC, que foram diluídos em diclorometano.

A determinação quantitativa foi baseada no método do padrão externo por comparação com o tempo de retenção de padrões de compostos fenólicos puros e metilxantinas. Para todas as amostras, a concentração final dos compostos foi determinada pela média dos resultados de três injeções consecutivas (MORAIS et al., 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS

Os valores de umidade e substâncias voláteis determinados para casca de café e para a borra, após a secagem, estão apresentados na Tabela 3, como média \pm desvio padrão.

Tabela 3: Teor de umidade e substâncias voláteis.

MATÉRIA-PRIMA	RESULTADO (g/100g)
Borra de café	14,5 \pm 0,4
Casca de café	13,04 \pm 0,02

A água presente na amostra geralmente afeta negativamente o rendimento da extração supercrítica. Para evitar interações indesejáveis entre a matriz vegetal e a água, essa deve ser removida ou ao menos ter seu conteúdo controlado. Apenas 0,3% da água contida na amostra são solúveis em CO₂ supercrítico, e esta quantidade serve para solubilizar compostos relativamente polares, pouco solúveis no CO₂ puro. Assim, amostras com teor de umidade alto normalmente levam a baixos rendimentos de extração, já que a água passa a competir com o solvente supercrítico na extração de determinadas substâncias (POURMORTAZAVI; HAJIMIRSADEGHI, 2007).

A umidade final da borra de café foi alcançada após secagem em estufa com circulação de ar, conforme descrito no item 4.2.1, sendo que o teor de umidade inicial era de 75%. A casca de café sofreu apenas o processo de secagem ao sol na própria fazenda de origem, alcançando dessa forma sua umidade final (item 4.1).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS

A caracterização das partículas que compõem o leito da extração supercrítica é de fundamental importância para a compreensão da cinética de extração e dos fenômenos de transferência de massa envolvidos no processo, através da análise dos parâmetros e curvas obtidos pela modelagem matemática.

A Tabela 4 apresenta os valores de diâmetro de partícula, massa específica real e aparente das amostras, além da porosidade do leito de partículas, obtidos para cada uma das matérias-primas em estudo, conforme metodologia descrita no item 4.4.

O diâmetro médio das partículas de casca e de borra de café foi determinado por análise de MEV, sendo que as micrografias obtidas estão apresentadas nas Figuras 8 e 9, respectivamente. No Apêndice IV, as micrografias são apresentadas em ampliações variadas para melhor visualização de detalhes das partículas.

Tabela 4: Caracterização do leito de partículas formado para a extração supercrítica.

Matéria-prima	Diâmetro médio de partícula (mm)	Massa específica aparente (g/cm³)	Massa específica real (g/cm³)	Porosidade do leito
Borra de café	0,25±0,04	0,621±0,001	0,653±0,001	0,05
Casca de café	0,63±0,16	0,444±0,003	0,749±0,002	0,41

O valor do desvio padrão para o diâmetro médio de partícula obtido para a amostra de casca de café reflete a não uniformidade no tamanho das partículas em relação às amostras de borra de café, que pode estar associada ao processo de trituração da matéria-prima. As partículas de borra mostraram-se mais uniformes, com tamanhos semelhantes.

As ampliações das micrografias foram diferentes para cada amostra (casca e borra) em função do tamanho das partículas analisadas.

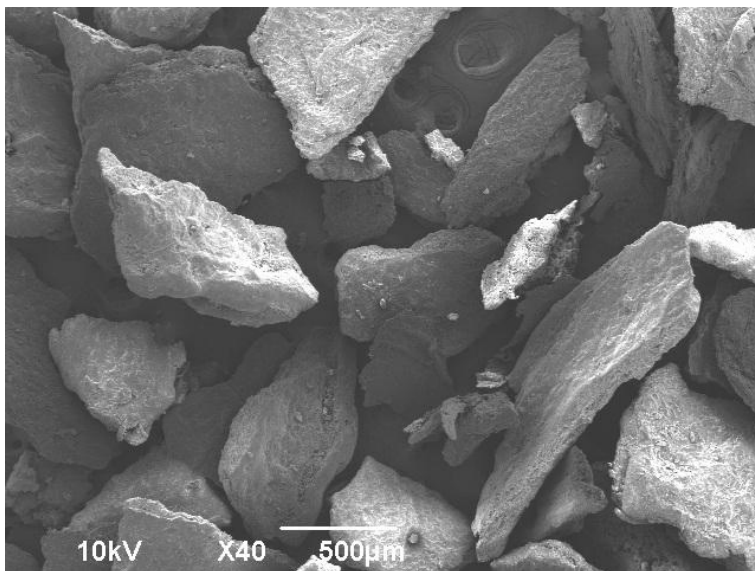


Figura 8: Micrografia obtida por MEV das partículas de casca de café de diâmetro $0,63 \pm 0,16$ mm, com aumento de 40x.

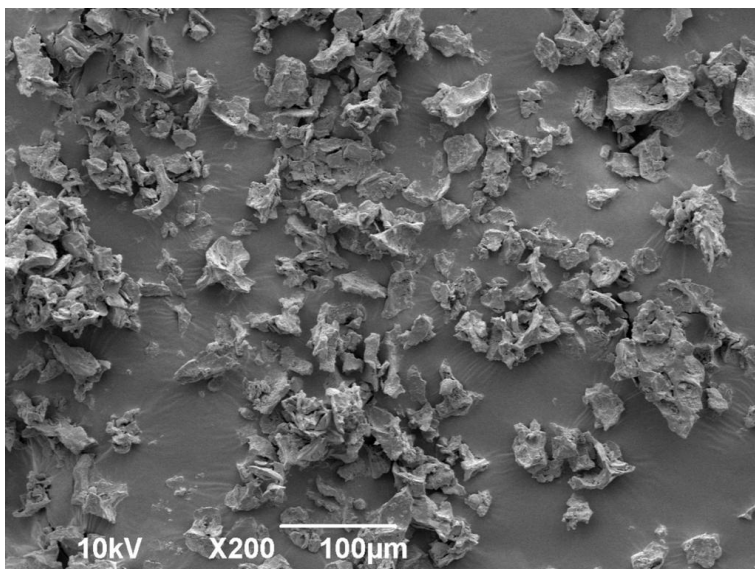


Figura 9: Micrografia obtida por MEV das partículas de borra de café, de diâmetro $0,25 \pm 0,04$ mm, com aumento de 200x.

5.3 TESTES PRELIMINARES

Os testes preliminares de cinética de extração foram realizados com o objetivo de definir as condições operacionais mais adequadas a serem utilizadas nas extrações com fluido supercrítico, tais como vazão de solvente e tempo de extração. Para isso, utilizou-se uma pressão de 200 bar e 50 °C, condição intermediária de pressão e temperatura empregada posteriormente nos ensaios de rendimento, e vazões de 8 ± 2 e 11 ± 2 g/min.

Constatou-se que o emprego de uma vazão de solvente maior levou a um maior rendimento de extração, tanto para a casca quanto para a borra de café, indicando que o processo de transferência de massa torna-se mais favorável quando uma maior massa de solvente é utilizada. Além disso, devido à característica resinosa do extrato de casca de café, é desejável que uma maior vazão de solvente seja empregada, de modo a evitar entupimentos na linha de extração devido ao acúmulo de extrato. A maior vazão promove também maior disponibilidade de soluto no extrator por unidade de tempo, aumentando o gradiente de concentração entre o sólido e o solvente, e consequentemente a taxa de transferência de massa. A Figura 10 ilustra as curvas de extração obtidas para a casca e para a borra de café, na condição de 200 bar, 50 °C e vazão de solvente de 11 ± 2 g/min.

Para os ensaios de rendimento global de extração supercrítica é necessário fixar um tempo de extração, para que seja possível avaliar os efeitos da pressão e da temperatura empregados no processo de extração. O tempo é fixado com base nas etapas da curva de extração, conforme descrito no item 4.8.2. Na etapa de taxa constante de extração (CER) as partículas se encontram completamente envoltas por uma camada superficial de soluto, fazendo com que o processo seja caracterizado pela transferência de massa por convecção entre a superfície do sólido e o solvente. Após a etapa CER, tem início a etapa de extração decrescente (FER), ocasionada pela exaustão da camada de soluto na superfície das partículas e pelo início da transferência por difusão, pois o solvente encontra espaços livres para penetrar na matriz sólida, solubilizar o soluto e retornar à superfície da partícula. A etapa final é a de taxa quase nula ou difusional de extração, na qual a inclinação da curva diminui e a curva se aproxima do valor que representa o conteúdo teórico de soluto extraível (X_0) (FERREIRA; MEIRELES, 2002).

Observando o comportamento das curvas de extração, apresentadas na Figura 10, padronizou-se o tempo de extração em 4 h e

30 min para a casca de café, e em 2 h e 30 min para a borra de café. Os tempos foram definidos de forma que a etapa difusiva fosse alcançada, garantindo que a maior parte de soluto tenha sido extraída.

Fazendo a regressão linear dos dados obtidos nas curvas de extração chega-se aos parâmetros cinéticos t_{CER} (tempo de duração da etapa CER) e M_{CER} (taxa de extração da etapa CER), apresentados nas Tabelas 5 e 6, para a casca e para a borra de café, respectivamente, e Y_{CER} (concentração de soluto na fase solvente na etapa CER).

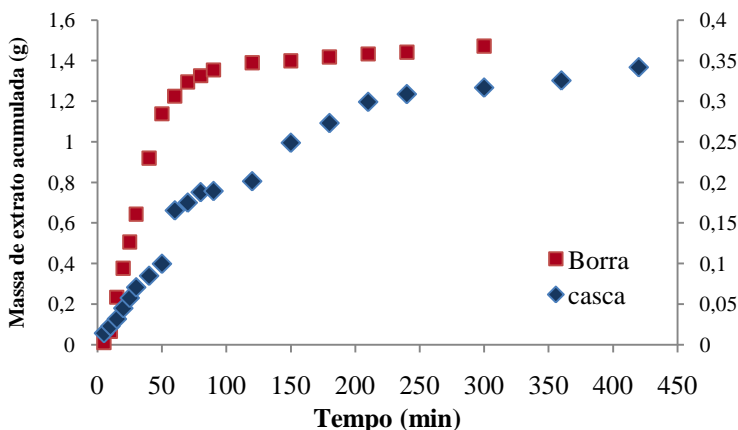


Figura 10: Curva de extração com CO_2 supercrítico de casca e de borra de café a 200 bar, 50°C e 11 ± 2 g/min de solvente.

Tabela 5: Parâmetros cinéticos de extração de casca de café a 200 bar, 50°C e vazão de solvente de 11 ± 2 g/min.

Parâmetro	Etapa de extração		
	CER	FER	DCP
t (min)	0 - 90	90 - 210	>210
m (g)	0,1892	0,1099	0,0427
X_0 (%)	1,261	0,732	0,284
M (g/min)	0,0023	0,0011	0,0002
Y	$2,09 \times 10^{-4}$	-	-

t: duração da etapa de extração; m: massa de extrato aproximada; X_0 : rendimento da etapa; M: taxa de extração; Y: concentração de soluto na fase solvente; CER: etapa de extração constante; FER: etapa de extração decrescente; DCP: etapa difusional.

Tabela 6: Parâmetros cinéticos de extração de borra de café a 200 bar, 50 ° C e vazão de solvente de 11±2 g/min.

Parâmetro	Etapa de extração		
	CER	FER	DCP
t (min)	0 - 40	40 - 80	>80
m (g)	0,9197	0,4056	0,1459
X ₀ (%)	6,13	2,71	0,97
M (g/min)	0,0269	0,0063	0,0005
Y	2,44 x 10 ⁻³	-	-

t: duração da etapa de extração; m: massa de extrato aproximada; X₀: rendimento da etapa; M: taxa de extração; Y: concentração de soluto na fase solvente; CER: etapa de extração constante; FER: etapa de extração decrescente; DCP: etapa difusional.

5.4 RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO (X₀)

5.4.1 Extrações a baixa pressão

O rendimento global de extração (X₀) é definido como a quantidade total de compostos presente na matriz sólida, possível de ser extraída pelo solvente, em função das condições de extração estabelecidas (SILVA, 2004).

Os rendimentos dos extratos da casca e da borra de café obtidos pelos processos de extração a baixa pressão, com diferentes solventes e seus respectivos índices de polaridade, estão apresentados na Tabela 7.

Os resultados apresentados na Tabela 7 indicam que os melhores rendimentos foram obtidos com a extração em Soxhlet, utilizando etanol como solvente, para as duas matérias-primas em estudo. Para a casca de café, não houve diferença significativa entre os rendimentos obtidos com hexano, diclorometano e acetato de etila, nos dois métodos de extração à baixa pressão empregados, à exceção da extração com ultrassom, empregando hexano, solvente de menor polaridade, que apresentou o menor rendimento global. Este mesmo comportamento foi observado para a borra de café, em que também o menor rendimento foi obtido com o solvente menos polar, utilizando método de extração com ultrassom.

Tabela 7: Rendimento global (X_0) das extrações a baixa pressão, utilizando solventes com polaridades variadas.

Método de extração	Solvente	Polaridade ⁽¹⁾	X_0 (%) ⁽²⁾	
			Casca	Borra
Soxhlet	Hex	0	3,9 ^{ab} ± 0,5	12 ^{abc} ± 1
	DCM	3,1	2,7 ^{ab} ± 0,3	10,8 ^{bc} ± 0,2
	EtOAc	4,4	3,4 ^{ab} ± 0,2	11,8 ^{abc} ± 0,1
	EtOH	5,2	4,8 ^a ± 0,1	15 ^a ± 2
Ultrassom	Hex	0	1,45 ^b ± 0,01	9 ^c ± 1
	DCM	3,1	2,3 ^{ab} ± 0,1	9,9 ^{bc} ± 0,1
	EtOAc	4,4	2,1 ^{ab} ± 0,1	9,7 ^{bc} ± 0,1
	EtOH	5,2	3,1 ^{ab} ± 0,4	12,2 ^{ab} ± 0,5

Hex: Hexano; DCM: Diclorometano; EtOAc: Acetato de etila; EtOH: Etanol.

⁽¹⁾ Índice de polaridade do solvente (BYERS, 2003).

⁽²⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

Ao se comparar os métodos de extração, para um mesmo solvente, observa-se que a extração em Soxhlet apresenta maiores rendimentos em relação ao ultrassom. A temperatura de operação, o reciclo do solvente e as interações entre o solvente e matriz vegetal, característicos da extração em Soxhlet, podem contribuir para uma maior solubilização de compostos, de diferentes tipos, elevando o rendimento da extração (MEZZOMO et al., 2010).

Os resultados indicam também que os solventes de maior polaridade levam a maiores rendimentos de extração, sugerindo que os compostos presentes na matriz vegetal apresentam polaridade de intermediária a alta. No entanto, na extração em Soxhlet com hexano, tanto para a casca quanto para a borra, o rendimento foi próximo ao de solventes mais polares, como acetato de etila e diclorometano, sugerindo também a presença de compostos de caráter lipofílico, mais facilmente solubilizados em solventes apolares, como o hexano.

Couto et al. (2009) apresentaram um rendimento de 5,8% para a extração de óleo de borra de café com hexano, resultado este superior ao alcançado neste trabalho. A variação no valor do rendimento alcançado pode estar associada à variedade do café que originou a borra, às condições de preparo e ao pré-tratamento das matérias-primas. Os

lipídios tendem a permanecer na borra de café após o preparo da bebida, mas a quantidade pode variar de acordo com o método empregado, como água quente ou vapor (RATNAJAKE, 1993).

5.4.2 Extração supercrítica

Na extração com CO₂ supercrítico, a avaliação do rendimento global de extração, obtido nas diferentes condições de temperatura e pressão empregadas, indica o efeito de solubilização do solvente e consequentemente a influência sobre o rendimento do processo. A Tabela 8 apresenta os resultados médios do rendimento global de extração (X₀), as condições de pressão e temperatura empregadas, bem como os valores de massa específica do solvente supercrítico, para os extratos de casca e de borra de café.

De acordo com a Tabela 8, o maior rendimento para o extrato de casca de café foi obtido na condição de 300 bar e 50 °C, 1,9 ± 0,6%, não diferindo significativamente dos resultados obtidos a 200 bar nas temperaturas de 50 °C e 60 °C. O menor rendimento foi obtido na condição de 100 bar e 60 °C. Os resultados alcançados nas demais condições não diferiram significativamente entre si.

Tabela 8: Valores de rendimento global de extração de casca e de borra de café (X₀) obtidos em diferentes condições de temperatura e pressão.

Temperatura (° C)	Pressão (bar)	ρCO ₂ ⁽¹⁾ (g/cm ³)	X ₀ (%) ⁽²⁾	
			Casca	Borra
40	100	0,629	1,24 ^{ab} ± 0,02	5,1 ^b ± 0,5
	200	0,840	1,65 ^{ab} ± 0,08	9,1 ^a ± 0,2
	300	0,911	1,56 ^{ab} ± 0,11	10,5 ^a ± 0,2
50	100	0,385	1,03 ^{ab} ± 0,07	1,3 ^c ± 0,6
	200	0,785	1,7 ^a ± 0,1	9,7 ^a ± 0,1
	300	0,871	1,9 ^a ± 0,6	9,38 ^a ± 0,01
60	100	0,295	0,55 ^b ± 0,02	0,43 ^c ± 0,09
	200	0,724	1,86 ^a ± 0,01	9,1 ^a ± 0,5
	300	0,830	1,5 ^{ab} ± 0,1	9,8 ^a ± 0,3

⁽¹⁾ANGUS; ARMSTRONG; DE REUCK, 1976.

⁽²⁾Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

À temperatura de 50 °C é possível observar o aumento do rendimento com o incremento da pressão. Este comportamento é justificado pelo aumento da densidade do solvente com a pressão, aumentando o poder de solvatação do CO₂ (BRUNNER, 1994). Ainda, o aumento da pressão pode gerar rupturas na matriz vegetal e facilitar a liberação de compostos que não estavam disponíveis anteriormente, e dessa forma, aumentam o rendimento do processo (CAMPOS et al., 2005).

O efeito da temperatura no rendimento de extração, à pressão constante, dá-se por dois mecanismos: o aumento na temperatura de processo aumenta a solubilidade devido ao aumento da pressão de vapor do soluto e por outro lado reduz a solubilidade devido à diminuição na densidade do solvente. Estes dois efeitos contrários resultam na inversão das isotermas de rendimento, fenômeno denominado retrogradação (BRUNNER, 1994; MICHIELIN, 2009). Este fenômeno representa a influência da pressão de vapor do soluto e do poder de solvatação do solvente, na solubilidade e também no rendimento do processo (MICHIELIN et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007).

Conforma a Tabela 8, o maior rendimento para a borra de café foi alcançado na condição de 300 bar e 40 °C ($10,5 \pm 0,2\%$), sendo que esse não diferiu significativamente dos extratos obtidos a 200 bar nas três temperaturas empregadas, e também daqueles obtidos a 300 bar nas temperaturas de 50 °C e 60 °C. Os menores rendimentos foram verificados empregando a pressão de 100 bar, nas temperaturas de 40 °C, 50 °C e 60 °C.

É possível observar o aumento do rendimento com o incremento da pressão, mantendo-se a temperatura constante, comportamento justificado pelo aumento da densidade do solvente supercrítico com a pressão, como já explicado anteriormente. A redução no rendimento com o aumento da temperatura, à pressão constante, é facilmente observado na pressão de 100 bar. Tal comportamento deve-se ao fato de um aumento na temperatura reduzir a solubilidade do soluto devido à redução da densidade do solvente supercrítico (MICHIELIN, 2009).

Couto et al. (2009) obtiveram rendimentos superiores a 13% na extração de óleo de borra de café, nas pressões de 200 bar e 300 bar, e temperaturas de 40 °C e 50 °C, em 3 h de extração. Neste trabalho também foi observado o comportamento de aumento do rendimento com o incremento da pressão, mantendo a temperatura constante. O efeito da redução do rendimento dos extratos com o aumento da temperatura à pressão constante foi semelhante ao encontrado no presente trabalho, provavelmente devido à redução da densidade do solvente supercrítico

com o aumento da temperatura, diminuindo sua capacidade de solvatação.

A Figura 11 apresenta as isotermas de rendimento de extração supercrítica para a casca de café. As isotermas mostram uma inversão na região entre 150 e 200 bar, indicando uma possível região de retrogradação. Na região próxima a 150 bar, o rendimento aumenta com a redução da temperatura, onde predomina o efeito da densidade do solvente. Depois dessa região, o efeito da pressão de vapor é o dominante.

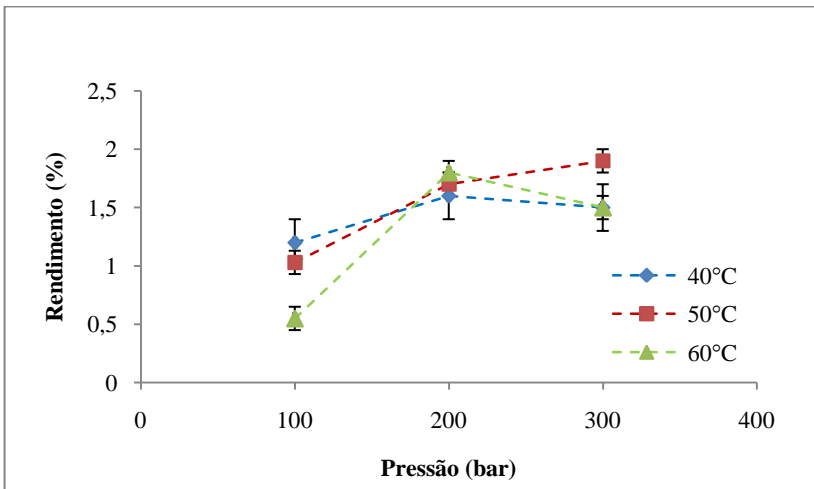


Figura 11: Isotermas de rendimento de extração supercrítica para a casca de café.

As isotermas de rendimento para os extratos de borra de café, ilustradas na Figura 12, mostram uma possível região de inversão próxima ao ponto correspondente a pressão de 200 bar e outra, próxima a região de 250 bar, nas temperaturas de 40 ° C e 50 ° C.

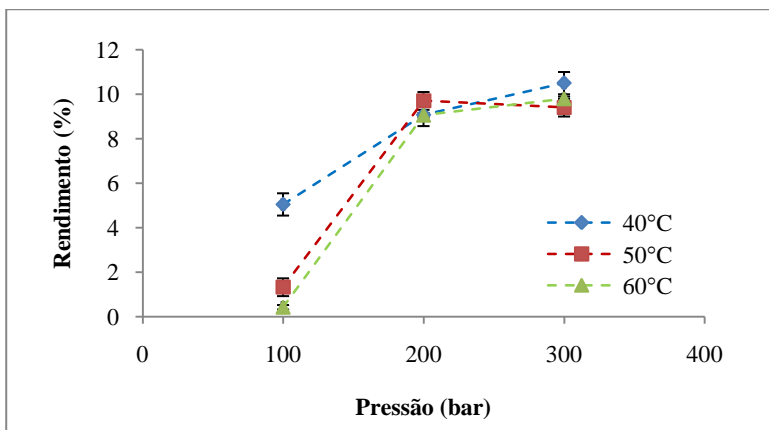


Figura 12: Isotermas de rendimento de extração supercrítica para a borra de café.

Ao se comparar os rendimentos obtidos por ESC com CO_2 supercrítico puro, com os resultados obtidos nas extrações convencionais (soxhlet e ultrassom), para as duas matérias-primas utilizadas, observa-se que os extratos obtidos a baixa pressão, empregando etanol como solvente tiveram rendimentos superiores aos alcançados por ESC. Tais resultados podem ser justificados pela extração de compostos mais polares, não solúveis no CO_2 , solvente apolar, e também, no caso da extração em Soxhlet, pelo maior tempo de operação e de volume de solvente empregados, quando comparado com a ESC.

Assim, buscando aumentar o rendimento da ESC, avaliando também a qualidade dos extratos, selecionou-se o etanol como cossolvente a ser empregado no processo de extração supercrítica. A definição das condições de extração supercrítica a serem empregadas utilizando cossolvente foi realizada com base no rendimento obtido utilizando CO_2 puro, e também pela atividade antioxidante apresentada pelos extratos (resultados apresentado no item 5.6). Sendo assim, a condição de 200 bar e 50 ° C foi selecionada para os ensaios de cossolvente com a casca de café, empregando-se etanol com frações de 4% e 8% em relação à massa de CO_2 empregada. Para a borra de café foi selecionada a condição de 100 bar e 60 ° C, também utilizando-se etanol nas frações de 8% e 15%. As concentrações de cossolvente empregadas foram definidas com base na literatura, estando na faixa de

valores normalmente empregados na ESC com cossolvente (CAMPOS et al., 2005; CASAS et al., 2007; BENELLI et al., 2010). Os resultados obtidos para ESC com cossolvente são apresentados na Figura 13.

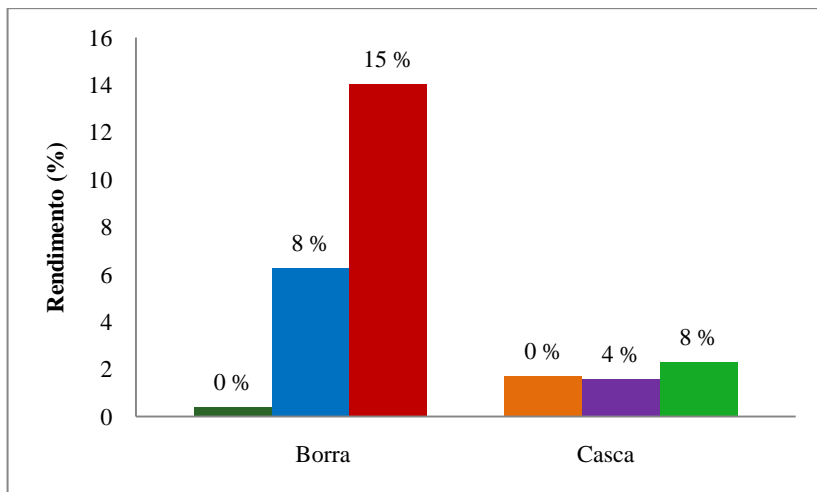


Figura 13: Rendimento global X_0 para os extratos de casca e de borra de café utilizando etanol como cossolvente.

A adição de cossolvente ao processo de extração supercrítica com CO_2 elevou os valores de rendimentos tanto para os extratos da casca quanto da borra de café, em ambas as concentrações de etanol testadas em cada caso.

Este aumento foi mais evidente para os extratos de borra de café, que na condição de 100 bar e 60 °C utilizando CO_2 puro apresentou rendimento de $0,45 \pm 0,09\%$, enquanto que com a adição de cossolvente este resultado passou para $6,3 \pm 0,5\%$ empregando 8% de etanol, e $14 \pm 2\%$, quando utilizados 15% de cossolvente. O aumento do rendimento da extração supercrítica de óleo de borra de café após a utilização de etanol como cossolvente, na fração de 6% em relação à massa de solvente supercrítico empregada, também foi verificado por Couto et al. (2009). Este comportamento deve-se a maior solubilização de compostos polares na mistura etanol/ CO_2 , o que não ocorre quando se utiliza o CO_2 puro, reduzindo assim a seletividade do processo, aumentando o rendimento.

5.5 MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem das curvas de extração foi realizada para as condições descritas no item 4.9 mediante o emprego de três modelos de transferência de massa: o modelo de Sovová (1994) e o modelo logístico de Martínez et al. (2003), baseados no balanço de massa diferencial, e o modelo de Crank (1975), baseado na analogia à transferência de calor.

Para a modelagem dos dados de extração é necessário o conhecimento de algumas variáveis do processo. Para a aplicação do modelo de Crank (1975) é necessário conhecer a massa inicial de soluto e o raio da partícula sólida. O modelo de Sovová (1994) utiliza dados como densidade do solvente, solubilidade do soluto no solvente supercrítico, densidade do sólido e porosidade do leito de partículas da ESC, além dos dados da curva a ser modelada, tais como X_0 , t_{cer} , M_{cer} e Y_{cer} . A aplicação do modelo de Martínez et al. (2003) necessita apenas da massa de soluto inicial.

A Tabela 9 apresenta os valores dos parâmetros ajustáveis e a soma dos quadrados dos erros (SQR) obtidos para cada modelo utilizado. Neste tópico, serão apresentadas três das nove curvas com os dados experimentais e modelados obtidos para a ESC de casca de café, sendo que as demais se encontram no Apêndice V. As condições de extração testadas, definidas no item 4.9, visam observar o efeito dos diferentes tamanhos de partícula da matriz vegetal e das vazões de solvente empregadas no comportamento das curvas de extração.

As Figuras 14, 15 e 16 apresentam as curvas de ESC de casca de café, com os dados experimentais e modelados, obtidas em 100 bar, 40 °C e empregando diâmetro de partícula de 0,06 cm e vazão de 16,6 g/min; diâmetro de 0,03 cm e vazão de 11,6 g/min e diâmetro de 0,05 cm e vazão de 6,6 g/min, respectivamente.

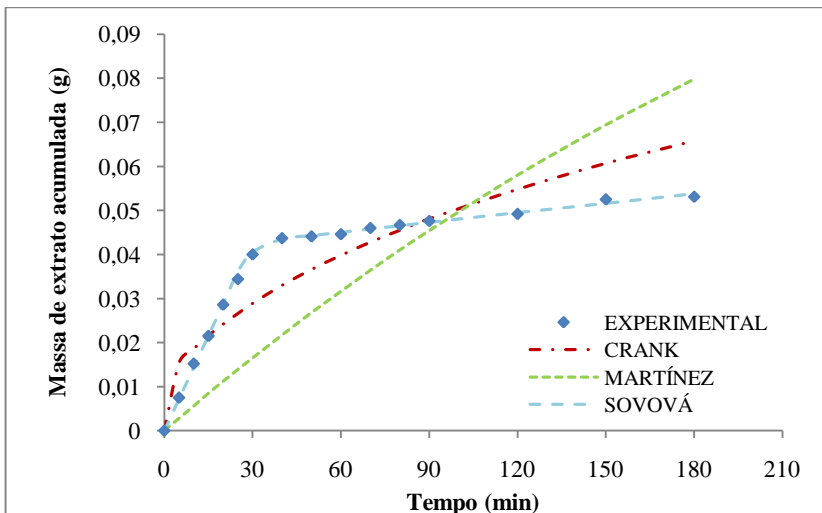


Figura 14: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,06cm e vazão de solvente de 16,6 g/min.

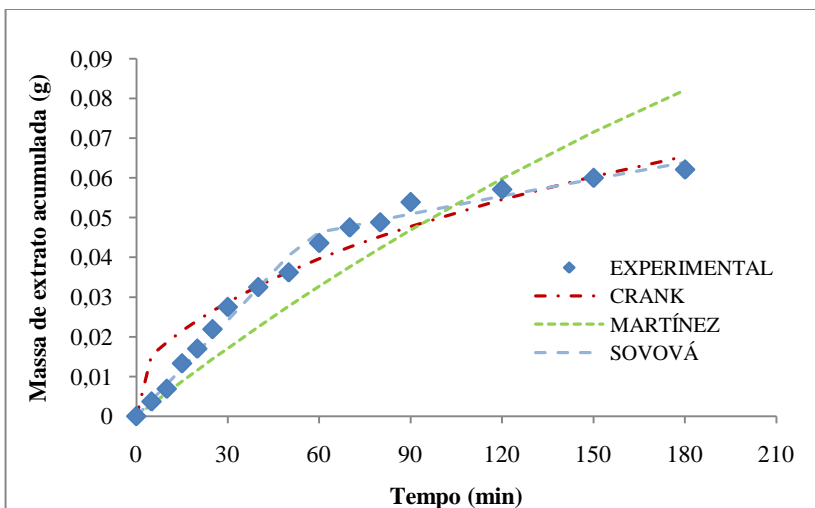


Figura 15: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,03cm e vazão de solvente de 11,6 g/min.

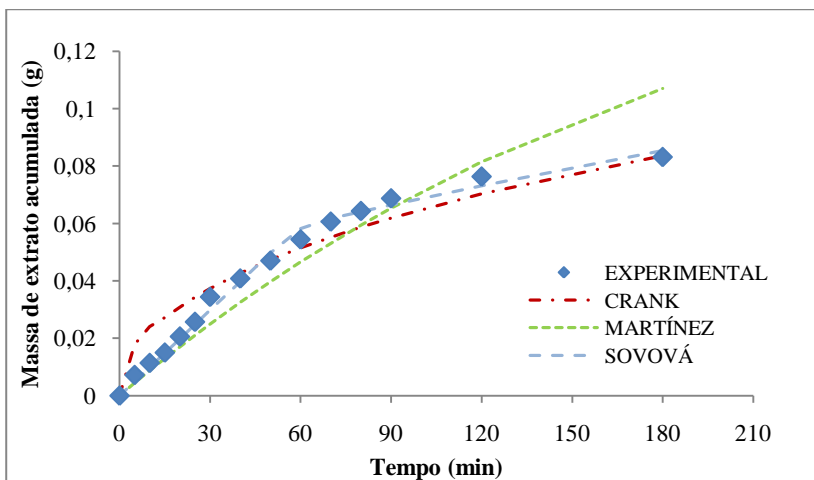


Figura 16: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,05cm e vazão de solvente de 6,6 g/min.

Tabela 9: Parâmetros ajustáveis e soma dos quadrados dos erros (SQR) dos modelos obtidos pela modelagem das curvas de ESC para casca de café.

Curva		1	2	3	4	5	6	7	8	9
P(bar)/T(°C)/D_p(cm)/ Q_{CO₂}(g/min)		100/40/ 0,06/11,6	100/40/ 0,06/16,6	100/40/ 0,06/6,6	100/40/ 0,03/16,6	100/40/ 0,03/11,6	100/40/ 0,03/6,6	100/40/ 0,05/16,6	100/40/ 0,05/11,6	100/40/ 0,05/6,6
Crank	D (m ² /s)	2,57.10 ⁻¹²	1,23.10 ⁻¹³	2,57.10 ⁻¹³	3,63.10 ⁻¹⁴	2,79.10 ⁻¹⁴	9,09.10 ⁻¹⁴	4,18.10 ⁻¹⁴	1,34.10 ⁻¹³	1,37.10 ⁻¹³
	SQR	5,1.10 ⁻¹⁰	9,6.10 ⁻¹⁰	6,3.10 ⁻¹⁰	3,7.10 ⁻¹⁰	6,6.10 ⁻¹⁰	4,8.10 ⁻¹⁰	4,5.10 ⁻¹⁰	7,3.10 ⁻¹⁰	8,8.10 ⁻¹⁰
Martínez	b (s ⁻¹)	0,00008	0,00005	0,00008	0,00006	0,00005	0,00011	0,00004	0,00007	0,00008
	t _m (s)	-99846,2	-99846,2	-99846,2	-99846,2	-99846,2	-99846,2	-99846,2	-99846,2	-99846,2
	SQR	2,9.10 ⁻⁹	3,8.10 ⁻⁹	3,7.10 ⁻⁹	2,1.10 ⁻⁹	1,2.10 ⁻⁹	2,2.10 ⁻⁹	7,1.10 ⁻¹⁰	1,1.10 ⁻⁹	1,1.10 ⁻⁹
Sovová	t _{CER} (s)	1908,1	1682,2	1649,4	1841,5	3257,1	1612,6	2447,6	1740,5	3246,3
	X _k	0,0089	0,0095	0,0087	0,0097	0,0093	0,0083	0,0105	0,0099	0,0084
	k _{y,a} (s ⁻¹)	0,0027	0,0025	0,0032	0,0021	0,0013	0,0037	0,0011	0,0021	0,0017
	k _{x,a} (s ⁻¹)	0,00004	0,000009	0,00003	0,00003	0,00002	0,00005	0,00002	0,00005	0,00003
	SQR	1,6.10 ⁻¹⁰	6,1.10 ⁻¹²	5,4.10 ⁻¹¹	1,4.10 ⁻¹⁰	5,8.10 ⁻¹¹	1,0.10 ⁻¹⁰	3,7.10 ⁻¹¹	1,6.10 ⁻¹⁰	7,5.10 ⁻¹¹

P: pressão; T: temperatura; D_p: diâmetro de partícula; Q_{CO₂}: vazão de solvente; D: coeficiente de difusão; b e t_m: parâmetros ajustáveis do modelo de Martínez *et al.* (2003); t_{CER}: duração da etapa CER; X_k: razão mássica de soluto de difícil acesso; k_{x,a}: coeficiente de transferência de massa na fase sólida; k_{y,a}: coeficiente de transferência de massa na fase fluida.

Observando as Figuras 14, 15 e 16 e avaliando os valores de SQR apresentados na Tabela 9, é possível verificar que o modelo de Sovová (1994) foi, de forma geral, o que melhor se ajustou aos dados experimentais. Este modelo apresenta bons ajustes quando as curvas experimentais têm um período de taxa constante de extração bem definido e tem como principal vantagem a descrição do fenômeno que ocorre no processo de extração supercrítica, dando um significado claro aos parâmetros ajustáveis. Sua aplicação é limitada a sistemas onde a solubilidade é conhecida na pressão e temperatura empregadas na extração (SOUSA et al.,2005). O bom ajuste alcançado neste trabalho sugere que a consideração realizada no item 4.6, assumindo a solubilidade do extrato como sendo a solubilidade de cafeína pura em CO₂ supercrítico (0,0007 g/g CO₂) foi adequada (GUPTA; SHIM, 2007).

Os valores do coeficiente de transferência de massa na fase sólida ($k_{x,a}$) foram menores que os valores obtidos para o coeficiente de transferência de massa na fase fluida ($k_{y,a}$) para todas as curvas avaliadas. O soluto localizado internamente nas partículas tem mais dificuldade de ser dissolvido, levando mais tempo para vencer a interface sólido-fluido que o soluto localizado na superfície das partículas. Estes resultados indicam que o mecanismo de difusão é menos representativo quando comparado à convecção na ESC de casca de café (MARTÍNEZ et al.,2003; WEINHOLD et al.,2008). Este comportamento também foi verificado por Michielin (2009) na ESC de erva-baleeira, por Mezzomo, Martínez e Ferreira (2009) na ESC de amêndoa de pêssgo e por Aguiar (2011), utilizando resíduo de pescada-olhada.

O aumento do parâmetro ($k_{y,a}$) com o aumento da vazão (Q_{CO_2}), verificado por Michielin (2009), Aguiar (2011) e Mezzomo, Martínez e Ferreira (2009) não foi observado neste trabalho. Esta relação entre o coeficiente de transferência de massa na fase fluida e a vazão de solvente era esperado, já que o valor de $k_{y,a}$ é diretamente afetado pela velocidade de escoamento do fluido, que por sua vez aumenta com o aumento da vazão de solvente. Já o valor de $k_{x,a}$ manteve-se praticamente constante, uma vez que o coeficiente de transferência de massa na fase sólida não sofre influência da vazão do solvente, pois é representado pela difusão do CO₂ e da mistura CO₂+soluto no interior das partículas da matriz de extração (MICHIELIN, 2009; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009). Não foi observada influência dos tamanhos de partículas sobre os parâmetros ajustáveis do modelo.

O modelo de Crank (1975) considera que o processo de extração é controlado unicamente pela difusão, não levando em conta o mecanismo de transferência de massa por convecção. Observando as curvas geradas por este modelo, percebe-se que elas se assemelham entre si, porém têm comportamento diferente dos dados experimentais, com maiores afastamentos na etapa de taxa constante de extração. Os desvios em relação aos pontos experimentais, positivos na etapa CER e negativos na etapa FER, geraram valores de erros baixos, pela compensação entre os afastamentos, dando a falsa impressão que o modelo forneceu um bom ajuste.

O modelo de Martínez et al. (2003) foi o que apresentou o pior ajuste entre os modelos testados. Este modelo é baseado no balanço de massa diferencial no leito de extração, considerando os fenômenos de transferência de massa que ocorrem na fase fluida e na fase sólida. O parâmetro t_m corresponde ao tempo em que a taxa de extração é máxima. Porém, em todas as curvas modeladas, este parâmetro apresentou valor negativo, perdendo seu significado físico. Isto indica que a taxa de extração é decrescente, ou seja, tem o seu valor máximo no instante inicial da extração, no tempo igual a zero (MARTÍNEZ et al., 2003).

A modelagem das curvas de ESC é uma ferramenta que possibilita a otimização de projetos e aumento de escala, como a definição do volume do extrator, rendimento e predição do comportamento da extração ao longo do processo, como o tempo de extração para uma dada condição operacional (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009).

5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS

5.6.1 Teor de compostos fenólicos totais (TFT)

Os valores encontrados para o teor de compostos fenólicos totais dos extratos de casca e borra de café, obtidos por extração em Soxhlet, ultrassom e ESC são apresentados na Tabela 10, respectivamente. Para fins de comparação, o valor de TFT para o antioxidante sintético BHT, obtido por Benelli et al. (2010) foi empregado, constando na Tabela 10. Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante de extratos de produtos naturais. A determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu

não caracteriza completamente a atividade antioxidante, mas representa uma boa estimativa dessa (ROGINSKY; LISSI, 2005). A curva padrão de ácido clorogênico, utilizada para o cálculo do teor de compostos fenólicos totais consta no Apêndice III. O teor de compostos fenólicos totais dos extratos de casca de café obtidos por ESC não apresentou uma tendência de variação com a mudança da pressão ou da temperatura. Não houve diferença significativa entre os valores de TFT, mas o maior valor obtido foi a 200 bar, 50 °C utilizando 8% de etanol como cossolvente. Ainda assim, pode-se afirmar que a adição de etanol não influenciou o teor de compostos fenólicos dos extratos obtidos por ESC. Os resultados de TFT obtidos pelas extrações a baixa pressão com etanol sugeriam que este era o melhor solvente a ser empregado em adição ao CO₂ supercrítico, mas os resultados alcançados com a aplicação do cossolvente não diferiram dos obtidos com solvente supercrítico puro, contrariando o esperado. Acredita-se que as concentrações de etanol utilizadas não tenham sido suficientes para aumentar a extração dos compostos fenólicos. O menor valor de TFT foi obtido na condição de 100 bar e 50 °C, $16,1 \pm 0,5$ mgEAC/g extrato.

Observa-se na Tabela 10, que todos os extratos de casca de café apresentaram valores de TFT bastante inferiores ao obtido para o antioxidante comercial BHT, utilizado com padrão.

Entre os métodos de extração à baixa pressão, os melhores resultados foram obtidos com etanol e acetato de etila para extração em Soxhlet, e etanol para extração com ultrassom. Apesar disso, os baixos rendimentos encontrados para tais extratos podem se tornar fatores limitantes à viabilidade do processo de obtenção de compostos fenólicos pelas técnicas aqui testadas.

De modo geral, os compostos fenólicos são caracterizados como polares, e por isso são mais facilmente solubilizados em solventes de maior polaridade. No entanto, podem apresentar uma ampla faixa de polaridade, sendo também solubilizados em solventes de menor polaridade, tais como hexano e CO₂, como pode ser observado na Tabela 10.

Tabela 10: Teor de compostos fenólicos totais (TFT), expressos em equivalentes de ácido clorogênico (EAC), para os extratos de casca e de borra de café e BHT.

EXTRAÇÃO	SOLVENTE	TFT ⁽¹⁾ (mgEAC/g extrato)	
		Casca	Borra
US	Hex	61 ^e ± 3	264 ^c ± 18
	DCM	71 ^e ± 2	221 ^{cd} ± 18
	EtOAc	67 ^e ± 9	553 ^a ± 60
	EtOH	133,4 ^c ± 0,6	587 ^a ± 46
SOX	Hex	65 ^e ± 6	177 ^{de} ± 25
	DCM	65 ^e ± 2	174 ^{de} ± 17
	EtOAc	105 ^d ± 4	183 ^{de} ± 28
	EtOH	151 ^b ± 12	119 ^{ef} ± 2
ESC 100 bar/40 ° C	CO ₂	22 ^f ± 2	46 ^g ± 3
ESC 100 bar/50 ° C	CO ₂	16,1 ^f ± 0,5	57 ^g ± 2
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂	20,6 ^f ± 0,8	31 ^g ± 1
ESC 200 bar/40 ° C	CO ₂	20,6 ^f ± 0,8	38 ^g ± 5
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂	20,9 ^f ± 0,9	24 ^g ± 1
ESC 200 bar/60 ° C	CO ₂	19,8 ^f ± 0,1	42 ^g ± 13
ESC 300 bar/40 ° C	CO ₂	21,5 ^f ± 0,8	36 ^g ± 2
ESC 300 bar/50 ° C	CO ₂	28 ^f ± 1	36,1 ^g ± 0,8
ESC 300 bar/60 ° C	CO ₂	17,2 ^f ± 0,8	37 ^g ± 1
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 4% etanol	26 ^f ± 2	-
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 8% etanol	36 ^{ef} ± 1	-
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂ + 8% etanol	-	57 ^g ± 3
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂ + 15% etanol	-	42 ^g ± 2
BHT ⁽²⁾	-	423 ^a ± 13	423 ^a ± 13

⁽¹⁾ Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$).

⁽²⁾ BENELLI et al. (2010).

Para a borra de café, a extração por ultrassom foi a técnica que proporcionou os extratos com maior TFT, sendo que o melhor valor, 587 ± 46 mgEAC/g extrato, foi obtido utilizando etanol como solvente. Este valor foi ainda superior ao determinado para o antioxidante sintético BHT, o que mostra o potencial antioxidante dos extratos avaliados. O etanol é o solvente mais indicado na extração de compostos antioxidantes, pois, devido à sua característica polar, promove a extração de compostos como ácidos fenólicos (BISCAIA, 2007). Supõe-se que o fenômeno de cavitação gerado no processo de extração com ultrassom facilite a liberação e solubilização de compostos presentes nos poros da matriz vegetal, o que não ocorre com a extração em Soxhlet, e associado à polaridade do solvente empregado, promova uma melhor extração de compostos fenólicos (MA et al, 2009).

No caso da extração em Soxhlet, o melhor resultado (183 ± 28 mgEAC/g extrato) foi obtido quando utilizado o acetato de etila, solvente de polaridade intermediária, sendo que este valor não diferiu significativamente dos extratos obtidos empregando hexano e diclorometano como solventes, sendo 177 ± 25 mgEAC/g extrato e 174 ± 17 mgEAC/g extrato, respectivamente.

Entre os extratos obtidos por ESC, o maior teor de fenólicos totais foi encontrado na condição utilizando 8% de etanol, com 57 ± 3 mgEAC/g extrato, um valor que não diferiu estatisticamente dos valores de TFT encontrados para os demais extratos obtidos por esta técnica. Assim como os extratos de casca de café, os resultados para os extratos de borra não apresentaram tendência de variação com a pressão ou com a temperatura.

A avaliação geral dos resultados desta análise indica a presença de compostos fenólicos de alta polaridade, não sendo, portanto, facilmente extraíveis por solventes apolares, como o CO₂ supercrítico.

5.6.2 Atividade antioxidante pelo método DPPH.

As Tabelas 11 e 12 apresentam, respectivamente, os resultados da atividade antioxidante dos extratos de casca e de borra de café obtidos em Soxhlet, ultrassom e ESC. A atividade antioxidante, referente à maior concentração de extrato testada (500 µg/mL) é apresentada em AA % e EC₅₀, ou seja, a concentração efetiva a 50%. Na presença de compostos antioxidantes, o radical DPPH recebe um elétron, tornando-se mais estável. Com isso, dá-se a redução da sua absorbância, e este processo pode ser avaliado visualmente, por meio da descoloração da

solução contendo o DPPH e também com a utilização de espectrofotômetro.

Tabela 11: Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de casca de café avaliado pelo método DPPH.

EXTRAÇÃO	SOLVENTE	AA% ⁽¹⁾ (500 µg/mL)	EC ₅₀ ⁽¹⁾ (µg/mL)
UE	Hex	28,3 ^f	286,7 ⁿ
	DCM	34,3 ^e	732,5 ^l
	EtOAc	79,6 ^c	286,7 ⁿ
	EtOH	91,5 ^a	235,1 ^p
SOX	Hex	25,4 ^g	1029,5 ^j
	DCM	37,5 ^d	684,3 ^m
	EtOAc	81,5 ^b	242,1 ^o
	EtOH	90,3 ^a	235,4 ^p
ESC 100 bar/40 ° C	CO ₂	11,2 ^{kl}	2808,2 ^d
ESC 100 bar/50 ° C	CO ₂	16,5 ⁱ	21298,1 ^a
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂	10,5 ^l	3183,6 ^c
ESC 200 bar/40 ° C	CO ₂	15,7 ⁱ	1706,2 ⁱ
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂	10,6 ^l	2711,7 ^e
ESC 200 bar/60 ° C	CO ₂	23,6 ^h	3310,2 ^b
ESC 300 bar/40 ° C	CO ₂	23,7 ^h	1713,5 ^h
ESC 300 bar/50 ° C	CO ₂	13,5 ^j	2294,8 ^g
ESC 300 bar/60 ° C	CO ₂	12,1 ^k	2442,7 ^f
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 4% etanol	25,4 ^g	961,1 ^j
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 8% etanol	39,6 ^d	630 ^m

⁽¹⁾Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa.

Os extratos obtidos a partir da casca de café empregando etanol e acetato de etila como solventes, para as técnicas soxhlet e ultrassom, apresentaram melhores valores de atividade antioxidante. Estes valores foram superiores ao encontrado para o antioxidante sintético BHT,

determinado por Benelli et al.(2010), que foi de $89,7 \pm 0,5$ % AA. A baixa atividade antioxidante encontrada para os extratos obtidos com hexano e diclorometano pode estar associada à baixa polaridade desses solventes.

Quanto menor o valor de EC_{50} , maior a atividade antioxidante do extrato, já que este valor representa a quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a atividade do radical livre. O valor de concentração efetiva (EC_{50}) para os extratos obtidos em Soxhlet e ultrassom, com etanol (235,4 $\mu\text{g/mL}$ e 235,1 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) e Soxhlet com acetato de etila (242,1 $\mu\text{g/mL}$) são melhores que o apresentado por Benelli et al.(2010) para o antioxidante sintético BHT (261 $\mu\text{g/mL}$) . Segundo Campos et al. (2008), valores de EC_{50} acima de 250 $\mu\text{g/mL}$ são considerados de baixo potencial antioxidante.

Murthy e Naidu (2010) em análise pelo método DPPH, dos extratos de casca de café cereja obtidos em Soxhlet utilizando uma mistura de solventes de isopropanol e água (60:40 v/v), encontraram atividade antioxidante de 69%, na concentração do extrato de 500 $\mu\text{g/mL}$.

Os extratos obtidos por extração supercrítica apresentaram valores de EC_{50} muito acima daquele que é considerado o de um bom potencial antioxidante, 250 $\mu\text{g/mL}$ (Campos et al., 2008). A baixa atividade antioxidante pode estar associada à baixa quantidade de compostos fenólicos, de polaridade de intermediária a alta, presentes nos extratos, já que o CO_2 , solvente apolar, não favorece a solubilização de tais compostos. Não é possível definir um comportamento da atividade antioxidante ou da concentração efetiva frente às variações de temperatura e pressão. Este comportamento aleatório pode estar associado aos diferentes compostos extraídos em cada uma das condições experimentais, refletindo em variações no potencial antioxidante (BENELLI, 2010). A adição de cossolvente elevou a atividade antioxidante dos extratos, comparativamente àquele obtido na mesma condição de pressão e temperatura, empregando somente CO_2 , sendo que este comportamento deve estar associado à extração de compostos mais polares, responsáveis pelo potencial antioxidante.

Comparando os dados da Tabela 10, para o teor de compostos fenólicos totais, e a Tabela 11, que apresenta os dados de atividade antioxidante para a casca de café, é possível observar que os extratos com maior valor de atividade antioxidante foram aqueles que apresentam também maiores teores de compostos fenólicos totais.

A Tabela 12 apresenta os resultados determinados para a atividade antioxidante e concentração efetiva a 50% (EC_{50}) dos extratos obtidos a partir de borra de café.

O extrato de borra de café pelo método Soxhlet com acetato de etila apresentou os melhores valores de atividade antioxidante (93,5%) e consequentemente de EC_{50} (202,23 $\mu\text{g/mL}$). Michielin (2009), avaliando a atividade antioxidante de erva baleeira, também verificou o melhor resultado para atividade antioxidante quando utilizou acetato de etila como solvente, em método de extração a baixa pressão.

Tabela 12: Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de borra de café avaliado pelo método DPPH.

EXTRAÇÃO	SOLVENTE	AA% (500 $\mu\text{g/mL}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
UE	Hex	14,4 ^k	1972,23 ^c
	DCM	47,3 ^c	532,5 ⁱ
	EtOAc	29,1 ^g	814,57 ^f
	EtOH	32,2 ^f	787,63 ^{fg}
SOX	Hex	19,6 ^h	1421,53 ^e
	DCM	38,8 ^d	659,43 ^h
	EtOAc	93,5 ^a	202,23 ^j
	EtOH	46,5 ^c	537,37 ⁱ
ESC 100 bar/40 ° C	CO ₂	17,6 ⁱ	1380,1 ^e
ESC 100 bar/50 ° C	CO ₂	34,9 ^e	724,1 ^{gh}
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂	51,5 ^b	478,2 ⁱ
ESC 200 bar/40 ° C	CO ₂	10,3 ^m	2264,3 ^b
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂	11,7 ^l	2369,5 ^a
ESC 200 bar/60 ° C	CO ₂	15,3 ^j	1748,1 ^d
ESC 300 bar/40 ° C	CO ₂	15,2 ^j	1962,5 ^c
ESC 300 bar/50 ° C	CO ₂	14,3 ^k	2185,2 ^b
ESC 300 bar/60 ° C	CO ₂	18,9 ^h	1949,4 ^c
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂ + 8% etanol	47,9 ^c	516,2 ⁱ
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂ + 15% etanol	33,1 ^e	746,7 ^{gh}

⁽¹⁾Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa.

Yen et al. (2005) determinaram a capacidade antioxidante dos resíduos de café torrado. O método DPPH foi usado para avaliar a atividade do extrato aquoso do resíduo, e o tocoferol foi o antioxidante utilizado como referência. Os resultados mostraram 95,4 e 95,3% de efeito sequestrador do radical DPPH, respectivamente. De acordo com o teste DPPH, o resíduo atuou como um sequestrador direto de radicais livres, indicando uma ótima atividade antiradical. O resultado determinado no presente trabalho para a extração em Soxhlet com acetato de etila encontra-se de acordo ao obtido por Yen et al. (2005).

Murthy e Naidu (2010) verificaram uma atividade antioxidante de 70% para o extrato aquoso obtido a partir de borra de café, valor inferior ao encontrado neste estudo. As variações nos valores de atividade antioxidante encontrados na literatura podem estar associadas à variedade da matéria-prima, às condições de pré-tratamento, aos solventes e aos métodos de extração empregados.

Entre os extratos obtidos por extração supercrítica, destacou-se o extrato obtido a 100 bar e 60 °C, apresentando valor de atividade antioxidante de 51,5% e EC₅₀ de 478,2 µg/mL. Apesar de ter sido o melhor valor de EC₅₀ encontrado entre os extratos obtidos por ESC, ainda apresenta-se bastante superior àquele que representa um bom potencial antioxidante (CAMPOS et al., 2008). A adição de etanol na concentração de 8% não favoreceu o aumento da atividade antioxidante do extrato, quando comparado ao obtido na mesma condição de 100 bar e 60 °C utilizando somente CO₂. Observa-se também um aumento da atividade antioxidante com o aumento da temperatura, mantendo a pressão constante, indicando que os compostos responsáveis pela atividade antioxidante são mais facilmente solubilizados em temperaturas elevadas e possivelmente não sofreram degradação térmica.

Pode-se constatar que a atividade antioxidante dos extratos testados não está diretamente associada ao teor de compostos fenólicos totais dos extratos testados, uma vez que os resultados de TFT foram mais satisfatórios para os extratos obtidos a partir da borra de café. Em contrapartida, os melhores potenciais antioxidantes foram verificados para os extratos de casca de café, à exceção do extrato de borra de café obtido em Soxhlet com acetato de etila. Sendo assim, pode-se concluir que a atividade antioxidante não depende somente da presença dos compostos fenólicos, mas também de outros compostos, que podem contribuir para o efeito antioxidante.

5.6.3 Capacidade antioxidante total pelo método ABTS

Esta análise teve o objetivo de verificar a capacidade dos extratos de casca e de borra de café em sequestrar o radical cátion 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), comparado a um padrão antioxidante (Trolox, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) em uma curva dose-resposta. Este método é uma excelente ferramenta para determinar a atividade antioxidante de compostos doadores de hidrogênio e de compostos terminadores de cadeias (RE et al. 1999).

As Tabelas 13 e 14 apresentam a porcentagem de inibição do radical ABTS calculada conforme descrito no item 4.10.3 e os valores da atividade antioxidante dos extratos de casca e de borra de café, respectivamente, avaliados em termos de poder de seqüestro de radicais, de acordo com o método ABTS, expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC).

Observando a Tabela 13, nota-se que mais uma vez os extratos obtidos por Soxhlet com acetato de etila e com etanol apresentaram as maiores capacidades antioxidantes ($381 \pm 16 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato e $375 \pm 6 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato) respectivamente, demonstrando a afinidade dos compostos responsáveis pelo potencial antioxidante por solventes de polaridade intermediária a alta.

Os extratos obtidos por ultrassom com hexano, diclorometano e acetato de etila não diferiram significativamente entre si, apresentando capacidade antioxidante entre $127 \pm 6 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato e $155 \pm 19 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato.

Entre os extratos obtidos por ESC destaca-se a capacidade antioxidante daquele obtido a 250 bar e 50°C , com a adição de 8% de etanol, $140 \pm 1 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato, indicando a solubilização de compostos polares com atividade antioxidante, que não foram extraídos na mesma condição de pressão e temperatura utilizando CO_2 puro. A aplicação de solventes orgânicos líquidos e polares em baixas concentrações na extração supercrítica é um procedimento comumente empregado quando se pretende aumentar não somente o rendimento de extração, mas também quando se deseja solubilizar outras classes de compostos polares, como os polifenóis (GRIGORIS et al. 2005).

Baggio (2006), testando a atividade antioxidante dos extratos etéreos de casca de café, encontrou valores entre $61,4 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato e $235,33 \mu\text{MTEAC/g}$ extrato. A diferença nos resultados deve-se a origem da casca de café utilizada. Tais resultados demonstram que os valores encontrados no presente trabalho encontram-se de acordo com a

literatura, e ainda apresentam extratos com importante capacidade antioxidante quando obtidos com etanol e acetato de etila, como já descrito anteriormente.

Avaliando o extrato obtido a 300 bar e 60 °C e traçando um comparativo com o TFT obtido para este mesmo extrato, sugere-se que a atividade antioxidante neste extrato não está associada unicamente à presença de compostos fenólicos, já que o valor encontrado foi baixo quando comparado aos dos demais extratos ($17,2 \pm 0,8$ mgEAC/g extrato), mas também à presença de outros compostos, não fenólicos, com reconhecida atividade antioxidante, como a cafeína.

Tabela 13: Capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS para os extratos de casca de café.

EXTRAÇÃO	SOLVENTE	% INIBIÇÃO ⁽¹⁾	TEAC ⁽²⁾
UE	Hex	$10,9^c \pm 0,4$	$127^c \pm 6$
	DCM	$13^c \pm 1$	$155^b \pm 19$
	EtOAc	$11,1^c \pm 0,5$	$128^c \pm 8$
	EtOH	$13,3^b \pm 0,2$	$161^b \pm 3$
SOX	Hex	$8,7^d \pm 0,6$	$97^d \pm 8$
	DCM	$13,4^b \pm 0,6$	$162^b \pm 8$
	EtOAc	$29^a \pm 1$	$381^a \pm 16$
	EtOH	$28,9^a \pm 0,5$	$375^a \pm 6$
ESC 100 bar/40 ° C	CO ₂	$5,1^e \pm 0,6$	$46^e \pm 8$
ESC 100 bar/50 ° C	CO ₂	$4,8^e \pm 0,1$	$44^e \pm 2$
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂	$5^e \pm 1$	$50^e \pm 5$
ESC 200 bar/40 ° C	CO ₂	$5,1^e \pm 0,5$	$45^e \pm 6$
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂	$5,5^e \pm 0,2$	$53^e \pm 3$
ESC 200 bar/60 ° C	CO ₂	$5,2^e \pm 0,5$	$46^e \pm 7$
ESC 300 bar/40 ° C	CO ₂	$4,8^e \pm 0,6$	$38^e \pm 3$
ESC 300 bar/50 ° C	CO ₂	$4,3^e \pm 0,1$	$35,9^e \pm 0,8$
ESC 300 bar/60 ° C	CO ₂	$9^d \pm 3$	$122^c \pm 40$
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 4% etanol	$9,2^d \pm 0,2$	$103^d \pm 3$
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 8% etanol	$11,8^d \pm 0,1$	$140^b \pm 1$

⁽¹⁾Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa.

⁽²⁾Capacidade antioxidante expressa em equivalentes de Trolox em $\mu\text{M}/\text{g}$ de extrato.

A Tabela 14 apresenta a capacidade antioxidante determinada para os extratos de borra de café. Comparando os solventes utilizados na extração em Soxhlet, percebe-se que aqueles de polaridade intermediária favoreceram a capacidade antioxidante dos extratos obtidos, apresentando resultados estatisticamente diferentes dos determinados para os solventes mais e menos polares, etanol e hexano, respectivamente.

Tabela 14: Capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS para os extratos de borra de café.

EXTRAÇÃO	SOLVENTE	% INIBIÇÃO ⁽¹⁾	TEAC ⁽²⁾
UE	Hex	6,6 ^e ± 0,7	68 ^f ± 9
	DCM	9 ^d ± 1	98,3 ^e ± 0,3
	EtOAc	10 ^d ± 1	115 ^d ± 9
	EtOH	10,6 ^{cd} ± 0,7	124 ^d ± 10
SOX	Hex	7,1 ^e ± 0,3	75 ^f ± 3
	DCM	12,9 ^c ± 0,7	154 ^c ± 10
	EtOAc	13 ^c ± 1	160 ^c ± 13
	EtOH	11,6 ^{cd} ± 0,7	137 ^d ± 10
ESC 100 bar/40 ° C	CO ₂	11 ^{cd} ± 1	116 ^d ± 8
ESC 100 bar/50 ° C	CO ₂	18 ^b ± 1	225 ^b ± 14
ESC 100 bar/60 ° C	CO ₂	22 ^a ± 1	275 ^a ± 14
ESC 200 bar/40 ° C	CO ₂	5,3 ^e ± 0,3	51 ^g ± 5
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂	6 ^e ± 1	49 ^g ± 4
ESC 200 bar/60 ° C	CO ₂	7,4 ^e ± 0,1	81 ^f ± 3
ESC 300 bar/40 ° C	CO ₂	7,3 ^e ± 0,1	77,3 ^f ± 0,1
ESC 300 bar/50 ° C	CO ₂	7 ^e ± 1	60 ^g ± 5
ESC 300 bar/60 ° C	CO ₂	6,3 ^e ± 0,7	56 ^g ± 5
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 8% etanol	13,9 ^c ± 0,2	169 ^c ± 3
ESC 200 bar/50 ° C	CO ₂ + 15% etanol	9 ^d ± 1	99 ^e ± 8

⁽¹⁾Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa.

⁽²⁾Capacidade antioxidante expressa em equivalentes de Trolox em µM/ g de extrato.

Contrariamente ao observado nos extratos de casca de café, as melhores capacidades antioxidantes foram encontradas para os extratos obtidos por tecnologia supercrítica, na pressão de 100 bar e temperaturas de 60 °C e 50 °C, respectivamente. Estas condições encontram-se na região anterior à inversão das isothermas, discutida no item 5.4.2, na qual o aumento da temperatura, a uma pressão constante, eleva a pressão de vapor do soluto, aumentando também a solubilidade no solvente supercrítico.

A adição de uma maior concentração de cossolvente (15% de etanol) no processo de ESC apresentou um extrato com capacidade antioxidante inferior ao obtido com o acréscimo de 8% de etanol. Este comportamento provavelmente ocorreu por que a concentração elevada de etanol, de 15%, prejudicou a extração de compostos apolares, que para esta matéria-prima, podem estar associados ao potencial antioxidante do extrato.

5.7 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E METILXANTINAS

A técnica de CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) foi utilizada neste estudo para a avaliação do perfil de composição dos extratos de casca e de borra de café obtidos nas condições de extração já descritas. Devido à grande variedade de extratos obtida neste trabalho, foi necessário selecionar aqueles que seriam analisados pelo método CLAE. Todos os extratos obtidos a baixa pressão foram submetidos à análise de compostos fenólicos e de metilxantinas. Entre os extratos obtidos por extração supercrítica, três extratos de cada matéria-prima foram selecionados, com base no rendimento da extração, teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. As Figuras 17 e 18 ilustram os extratos supercríticos submetidos à análise por CLAE, onde é possível observar as diferenças de cor e textura em cada condição apresentada.

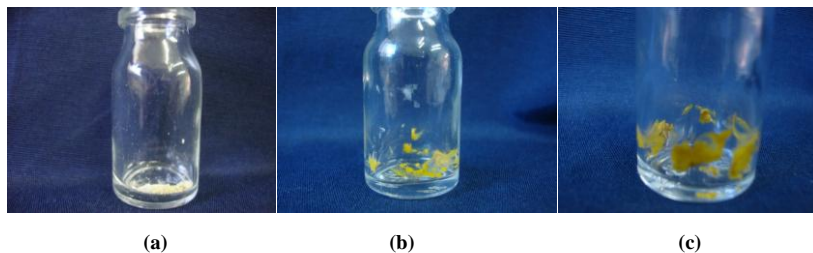


Figura 17: (a) 300 bar, 60 ° C; (b) 200 bar, 40 ° C; (c) 200 bar, 50 ° C, 8% etanol.

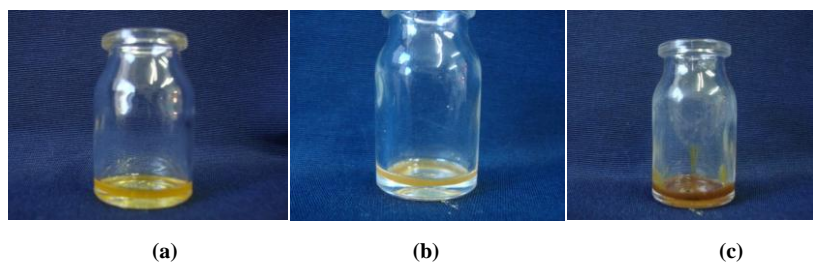


Figura 18: (a) 200 bar, 60 ° C; (b) 300 bar, 60 ° C; (c) 100 bar, 60 ° C, 15% etanol.

5.7.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos identificados nos extratos de casca e de borra de café estão apresentados na Tabela 15. Na tabela constam apenas os extratos nos quais se detectou a presença de algum dos compostos fenólicos utilizados como padrão na análise (item 4.12). Os valores de concentração foram expressos em equivalentes de ácido gálico ($\mu\text{gEAG/g}$ extrato).

De modo geral, não foi possível identificar nenhuma tendência de variação das concentrações dos compostos fenólicos com relação à pressão, à temperatura, ao método de extração ou ao solvente empregado na obtenção dos extratos.

O composto fenólico identificado no maior número de extratos analisados foi o ácido clorogênico, que não foi detectado somente nos extratos obtidos com etanol puro, a partir da casca e da borra de café, tanto para o método soxhlet como ultrassom. Os ácidos clorogênicos constituem os principais compostos fenólicos do café, e em geral são solúveis em alcoóis de cadeia curta e misturas álcool-água (AZEVEDO,

2005). São responsáveis por conferir pigmentação e adstringência ao café. A degradação térmica dos ácidos clorogênicos durante o processo de torrefação dos grãos leva à formação do sabor amargo e de compostos aromáticos indesejáveis a qualidade da bebida (DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010).

Um estudo realizado por Vinson e Dabbagh (1998) a fim de verificar a atividade antioxidante de compostos presentes no chá verde mostrou que os ácidos clorogênicos são melhores antioxidantes que as vitaminas E e C. Saldaña (1997), analisando a solubilidade de ácido clorogênico, a partir de grãos inteiros de café em CO₂ supercrítico, verificou maiores teores de ácido clorogênico nos extratos obtidos a 150 do que naqueles obtidos 220 bar, na temperatura de 40 °C. No presente trabalho, o extrato supercrítico de casca de café obtido a 300 bar e 60 °C foi o que apresentou a maior concentração de ácido clorogênico (942,8 µgEAG/g extrato), contrariando o dado da literatura.

Baixas concentrações de ácido clorogênico foram verificadas nos extratos de borra de café, principalmente naquele obtido em ultrassom com acetato de etila (0,3 µgEAG/g extrato). As baixas concentrações de ácido clorogênico nos extratos da borra de café podem estar associadas à degradação desses compostos, durante o processo de torrefação dos grãos, anteriormente ao preparo da bebida e geração do resíduo.

Os ácidos gálico, *p*-hidroxibenzóico, protocatecuico e vanílico, são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. O ácido gálico foi identificado em maior concentração no extrato de casca de café obtido em soxhlet, utilizando acetato de etila como solvente (113,8 µgEAG/g extrato). O ácido *p*-hidroxibenzóico foi identificado somente nos extratos de borra de café. Os ácidos tânico e vanílico não foram identificados nos extratos obtidos por tecnologia supercrítica, sendo que os extratos etanólicos de casca de café, obtidos em Soxhlet e em ultrassom, apresentaram valores de 80,3 µgEAG/g extrato para ácido tânico e 75,7µgEAG/g extrato para o ácido vanílico, indicando a maior polaridade destes compostos.

O ácido cafeico apresenta uma leve solubilidade em CO₂ supercrítico puro, sendo necessária a adição de um cossolvente para facilitar a solubilização do composto. Como é possível observar na Tabela 16, a adição de etanol ao processo de extração supercrítica não influenciou a extração deste composto, que foi identificado, em concentração mínima, somente no extrato de borra de café, obtido a 200 bar e 60 °C.

Os compostos fenólicos do café mais discutidos na literatura são os ácidos clorogênicos e seus metabólitos, por representarem a principal

fração fenólica dos grãos. Os principais grupos de ácidos clorogênicos são os ácidos cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloiquínicos e cumaroilquínicos. Os demais compostos fenólicos, apesar de representarem potencial biológico, não são tão explorados quanto os ácidos clorogênicos, conhecidos por apresentarem inúmeras propriedades benéficas à saúde, potente atividade antioxidante, além de funções hepatoprotetora, hipoglicemiante e antiviral (AZEVEDO, 2005; FARAH; DONANGELO, 2006; DUARTE; PEREIRA; FARAH, 2010).

Tabela 15: Compostos fenólicos identificados ($\mu\text{gEAG/g}$) nos extratos de casca e de borra de café.

Método de extração	Matéria-prima	Variáveis de processo/solvente	Epicatequina	Ácido gálico	Ácido tânico	Ác. protocatecuico	Ácido clorogênico	Ác. p-hidroxibenzoico	Ácido vanílico	Ácido cafeico
			$T_r = 4,3$ min	$T_r = 5,8$ min	$T_r = 6,2$ min	$T_r = 7,5$ min	$T_r = 8,9$ min	$T_r = 10,4$ min	$T_r = 11,7$ min	$T_r = 12,6$ min
Ultrassom	Borra	Etanol	0,3	-	0,7	33,1	-	0,8	-	-
	Borra	Acetato de etila	0,2	14,3	-	-	0,3	-	-	-
	Casca	Etanol	-	-	-	-	-	-	75,7	-
Soxhlet	Casca	Acetato de etila	1,4	113,8	-	-	0,5	-	-	-
	Casca	Etanol	-	-	80,3	-	-	-	-	-
ESC CO ₂	Borra	200 bar/60 ° C	-	-	-	0,6	41,3	-	-	0,1
	Borra	300 bar/60 ° C	-	-	-	-	27,3	3,1	-	-
	Casca	200 bar/40 ° C	-	0,9	-	-	174,5	-	-	-
	Casca	300 bar/60 ° C	2,1	-	-	0,8	942,8	-	-	-
ESC CO ₂ + etanol	Borra	100 bar/60 ° C/15%	-	-	-	-	19,6	2,2	-	-
	Casca	200 bar/50 ° C/8%	-	-	-	-	232,3	-	-	-

5.7.2 Metilxantinas

Cafeína, teobromina e teofilina são designadas como metilxantinas e fazem parte de um grupo de compostos por vezes classificados como alcalóides verdadeiros (alcalóides purínicos), em razão de sua marcante atividade biológica, distribuição restrita e presença estrutural de nitrogênio heterocíclico (MORAES et al. 2003). A Tabela 16 apresenta as concentrações de metilxantinas (teobromina, cafeína e teofilina) observadas para os extratos analisados por CLAE.

Tabela 16: Perfil de metilxantinas e seus respectivos tempos de retenção para os extratos de casca e de borra de café.

Método de extração	Matéria-prima	Variáveis de processo/solvente	Teobromina	Cafeína	Teofilina
			($\mu\text{g}/\text{mg}_{\text{extrato}}$) $T_r = 4,7 \text{ min}$	($\mu\text{g}/\text{mg}_{\text{extrato}}$) $T_r = 7,9 \text{ min}$	($\mu\text{g}/\text{mg}_{\text{extrato}}$) $T_r = 12,7 \text{ min}$
Ultrassom	Borra	Hexano	-	0,734	-
	Borra	Diclorometano	-	38,2	-
	Borra	Etanol	-	25,7	-
	Casca	Hexano	-	5,54	-
	Casca	Diclorometano	0,66	139,2	-
	Casca	Etanol	-	71,1	-
Soxhlet	Borra	Hexano	-	3,27	-
	Borra	Diclorometano	-	25,9	-
	Borra	Etanol	-	11,8	-
	Casca	Hexano	-	2,1	-
	Casca	Diclorometano	0,745	189,9	-
	Casca	Etanol	-	129,6	-
ESC CO ₂	Borra	200 bar/60 ° C	-	27,2	-
	Borra	300 bar/60 ° C	-	41,3	-
	Casca	200 bar/40 ° C	-	185,7	-
	Casca	300 bar/60 ° C	1,13	684,2	-
ESC CO ₂ + etanol	Borra	100 bar/ 60 ° C/15%	-	23,4	-
	Casca	200 bar/ 50 ° C/8%	0,655	87,8	-

Os extratos obtidos com acetato de etila nas técnicas de extração em Soxhlet e com ultrassom não constam na Tabela 16, pois não foi possível detectar a presença de nenhuma das metilxantinas avaliadas (cafeína, teofilina e teobromina).

O alcalóide teofilina não foi identificado em nenhum dos extratos testados. A cafeína foi detectada em todos os extratos analisados, à exceção daqueles obtidos com acetato de etila, como já informado. As concentrações variaram de 0, 734 $\mu\text{g}/\text{mg}$ extrato a 3421,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ extrato. Observa-se que para qualquer uma das condições testadas, os extratos de casca de café apresentam uma concentração de cafeína superior ao encontrado nos extratos de borra. A borra, por ser um resíduo do preparo da bebida de café, não mantém todos os compostos característicos do grão - como a cafeína, que por ser uma amina, forma sais solúveis em água - já que a maior parte desta substância é solubilizada durante a preparação da bebida (SALDAÑA, 1997).

Os extratos obtidos por extração a baixa pressão, tanto para a casca quanto para a borra de café, utilizando diclorometano como solvente, mostram uma concentração de cafeína superior às obtidas com os demais solventes orgânicos. O diclorometano, assim como o clorofórmio, tem sido utilizado na extração de alcalóides pela sua habilidade de extraí-los sem arrastar quantidades significativas de outros constituintes de natureza diferente (SALDAÑA, 1997).

Observando a concentração de cafeína dos extratos de borra de café obtidos a 60 °C, percebe-se o aumento desta concentração com a pressão, indicando a maior solubilidade da cafeína em pressões elevadas. Este mesmo comportamento foi verificado por Saldaña (1997) em experimentos para determinação da solubilidade de cafeína em CO₂ supercrítico. Não é possível afirmar que este comportamento se repita para os extratos de casca de café, já que foram analisados extratos em pressões e temperaturas diferentes.

A concentração de cafeína presente no extrato de casca de café obtido por ESC a 300 bar e 60 °C destaca-se entre os demais, representando cerca de 70% da composição total do extrato. Acredita-se que este extrato, ilustrado na Figura 16a, seja composto basicamente de cafeína cristalizada, caracterizado por um pó branco e inodoro.

A cafeína pode ser considerada o estimulante do sistema nervoso central mais consumido, seja na forma de bebida de café, ou chás, refrigerantes e chocolates, além de ser amplamente utilizada como coadjuvantes ou agentes em formulações farmacêuticas. Seu consumo em doses moderadas apresenta um efeito estimulante, reduzindo a fadiga, sem causar efeitos nocivos (NEHLIG; DAVAL; DEBRY, 1992).

A atividade antioxidante da cafeína da cafeína e de seus metabólitos foi avaliada em concentrações fisiológicas (40 $\mu\text{mol/L}$) empregando o método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). A capacidade antioxidante também foi avaliada pelo método de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e de oxidação da lipoproteína de baixa densidade humana (LDL). Os compostos avaliados reduziram de forma significativa os níveis de TBARS e de dienos conjugados produzidos durante a peroxidação da LDL humana (LEE, 2000).

Sendo assim, a obtenção de um extrato rico em cafeína, livre de solventes, utilizando como matéria-prima um resíduo agroindustrial apresenta-se como uma atraente alternativa aos métodos usualmente empregados, utilizando grãos de café verde ou torrado (AZEVEDO, 2005).

Pequenas concentrações de teobromina foram encontradas somente nos extratos obtidos a partir das cascas de café, por ESC e em Soxhlet e ultrassom com diclorometano como solvente. A teobromina e a cafeína apresentam semelhanças por serem alcalóides relacionados, mas a teobromina tem menos impacto no sistema nervoso central e estimula o coração em um maior grau. Ainda que a teobromina não seja uma substância viciante, foi apontada como a causadora do “vício por chocolate” (NEHLIG; DAVAL; DEBRY, 1992).

A extração supercrítica de casca de café apresentou-se como uma técnica apropriada para a obtenção de extratos contendo ácidos clorogênicos e cafeína, principalmente na pressão de 300 bar, a maior pressão testada neste estudo. Porém, os baixos rendimentos de extração desta matéria-prima sugerem o estudo de alternativas que facilitem e aumentem o rendimento da extração, a fim de obter uma maior concentração dos compostos de interesse. Vale ressaltar que em processos de extração, condições que oferecem altas seletividades são normalmente as que apresentam menores rendimentos de extração (SALDAÑA, 1997).

6 CONCLUSÃO

A extração supercrítica de casca e de borra de café apresentou rendimentos inferiores àqueles alcançados nas extrações à baixa pressão, em soxhlet e ultrassom.

A adição de cossolvente ao processo de extração supercrítica mostrou-se interessante no que diz respeito ao incremento do rendimento, principalmente para os extratos de borra de café, no entanto, não influenciou positivamente o TFT nem a atividade antioxidante.

Os melhores resultados de TFT foram encontrados para os extratos de borra de café, obtidos por soxhlet e ultrassom, com a utilização de etanol e acetato de etila. Os melhores potenciais antioxidantes, avaliados pelo método DPPH, foram encontrados para os extratos da casca de café, obtidos pelos métodos de extração a baixa pressão, utilizando solventes de maior polaridade. O método ABTS, quando aplicado aos extratos supercríticos, mostrou-se mais eficiente na detecção de compostos antioxidantes não identificáveis pelo método DPPH.

O extrato de casca de café obtido por ESC a 300 bar e 60 ° C apresentou uma concentração de cafeína bastante superior à encontrada nos demais extratos avaliados, aproximando-se de 75% do total do extrato. Nos extratos supercríticos, tanto de casca quanto de borra, foram identificados compostos fenólicos com reconhecida atividade antioxidante, como o ácido clorogênico.

Apesar dos baixos rendimentos observados na ESC, esta técnica torna-se bem interessante na obtenção de compostos de alto valor agregado, devido a seletividade do processo. A busca por condições operacionais que favoreçam positivamente o rendimento das extrações é uma alternativa a esta situação.

Assim, os resíduos de café apresentam-se como potenciais matérias-primas para a obtenção de composto de valor biológico, como cafeína e ácidos fenólicos, o que justifica o aproveitamento deste resíduo abundante em nosso país.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Extrações convencionais utilizando misturas de solventes, visando o aumento da recuperação de compostos fenólicos;
- b) Pré-tratamento diferenciado à casca de café: liberação de cafeína durante o processo de extração;
- c) Verificação da atividade antimicrobiana dos extratos, empregando diferentes solventes na análise;
- d) Avaliação do potencial antioxidante *in vivo* dos extratos, empregando culturas de células endoteliais;
- e) Fracionamento dos extratos na ESC;
- f) Predição de curvas de extração empregando correlações para o coeficiente de transferência de massa.

REFERÊNCIAS

ABIC – Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em www.abic.com.br.

AGHEL, N.; YAMINI, Y.; HADJIAKHOONDI, A.; POURMORTAZAVI, S.M. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta*, v. 62, p. 407-11, 2004.

ALMEIDA, P. P. Extração de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.) com misturas de solventes a alta pressão. Florianópolis, 2006. 114 p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, UFSC.

ALMEIDA, P. P. DE; FERREIRA, S. R. S. Crossover pressure for supercritical fluid extraction of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil with pure CO₂ and CO₂ plus ethanol. In: I Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids (PROSCIBA). Foz do Iguaçu, Caderno de Resumos do PROSCIBA, 2007.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; DE REUCK, K. M. International thermodynamic tables of the fluid state: Carbon dioxide. Oxford: Pergamon Press, 1976.

ARAÚJO, J. M. A. Química de Alimentos: Teoria e Prática. 4.ed. Belo Horizonte. Editora UFV - Universidade Federal de Viçosa, 2004. 415p.

ASHIHARA, H.; SUZUKI, T. Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. *Frontiers in Bioscience*, v. 9, p. 1864-1876, 2004.

Association of Official Analytical Chemists (2005), Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.

AZEVEDO, A. B. A. Extração e recuperação dos princípios ativos do café utilizando fluidos supercríticos. Campinas: UNICAMP, 2005. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, 2005.

AZUMA, K.; IPPOUSHI, K.; NAKAYAMA, M.; ITO, H.; HIGASHIO, H.; TERAQ, J. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 5496-5500, 2000.

BADOCHA, T. E.; COSTA, R. S. C.; LEONIDAS, F. C. Casca de Café: um importante insumo para a agricultura orgânica. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 3., 2003, Porto Seguro-BA. *Anais do III Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Porto Seguro, 2003.

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

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, v. 99(1), p. 191-203, 2006.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. Química de los alimentos. Zaragoza: Acribia, p. 645- 656, 1988.

BENELLI, P.; RIEHL, C.A.S.; SMÂNIA, A. J.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2010.

BISCAIA, D. Comparação entre tecnologia supercrítica e técnicas convencionais de extração para obtenção de extratos de própolis avaliados através de suas atividades biológicas. Florianópolis: UFSC, 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRUNNER, G. Gas Extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the applications to separation process. Darmstadt, Alemanha: Steikopff, Springer, 1994. 387p.

BRUNNER, G. Applications of Supercritical Fluids. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, v. 1, n. 1, p. 321-342, 2010.

BYERS, J. A., Catálogo Phenomenex, 2009. Disponível em: <http://www.phenomenex.com/phen/Doc/z366.pdf>.

CAMPOS, L. M. A. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. Journal of Supercritical Fluids, v. 34, p. 163-170, 2005.

CAMPOS, L. M. A. S., LEIMANN, F. V., PEDROSA, R. C., FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). Bioresource. Technology, v. 99, p. 8413-8420, 2008.

CARLSON, L. H. C. Size Meter. Florianópolis: LCP/EQA/UFSC, 2001.

CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. Journal of Chromatography A, v. 1217, p. 2383-2389, 2010.

CRANK, J. *The mathematics of diffusion*. Oxford: Claredon Press, 1975. 85p.

COUTO, R. M.; FERNANDES, J.; SILVA, M. D. R. G.; SIMÕES, P. C. Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds. The Journal of Supercritical Fluids, v.59, p. 159-166, 2009.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. Visão Acadêmica, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DIAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMINGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Supercritical CO₂ Extraction and Purification of Compounds with Antioxidant Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54, n. 7, p. 2441-2469, 2006.

DUARTE, G. S.; PEREIRA, A. A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, v. 118, p. 851-855, 2010.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal Plant Physiology*, v. 18, p. 26-36, 2006.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J., Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 14, p. 235-45, 1999.

FRANÇA, L.F.; REBER, G.; MEIRELES, M.A.A; MACHADO, N.T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buri (Mauritia flexuosa), a fruit from the Amazon region, *Journal of Supercritical Fluids* v. 14, p. 247-256, 1999.

FREITAS, L. S. Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 2007.

GÓMEZ, A. M.; OSSA, E. M. Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. *Chemical Engineering Journal*, v. 88, p. 103-109, 2002.

GÓMEZ-RUIZ, J. A.; LEAKE, D. S.; AMES, J. M. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *Journal. Agric. Food Chem.*, v. 55, p. 6962-6969, 2007.

GRIGONIS, D.; VENSKUTONIS, P. R.; SIVIK, B.; SANDAHL, M.; ESKILSSON, C. S. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloe odorata*). *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 33, p. 223-233, 2005.

GUPTA, R. B.; SHIM, J. Solubility in supercritical carbon dioxide. CRC Press. 2007.

HU, M.; SKIBSTED, L. H. Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nucifera*). *Food Chemistry*, v. 76, p. 327-333, 2002.

JACQUES, R. S. Caracterização química da erva mate (*Ilex paraguariensis*): aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química. Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

LEAL, P. F.; BRAGA, M. E. M.; SATO, D. N.; CARVALHO, J. E.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *Journal. Agric. Food Chem.*, v. 51, p. 2520-2525, 2003.

LEE, C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clinica Chimica Acta*, v. 295, p. 141-154, 2000.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 22(1), p. 41-7, 2003.

MA, Y.; YE, X.; FANG, Z.; CHEN, J.; XU, G.; LIU, D. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of *Sastsuma mandarin* (*Citrus unshiu* Marc.) peels. *Journal. Agric. Food Chem.*, v. 56, p. 5682-5690, 2008.

MAGALHÃES, E. A.; SILVA, J. S.; SILVA, J. N.; FILHO, D. O.; DORNELES, S. M. L.; MARTIN, S.; DUTRA, L. Casca de café associada à lenha como combustível para aquecimento indireto do ar de secagem, *Revista Brasileira de Armazenagem* v. 10 p. 66-72, 2008.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. *Industrial Engineering of Chemistry Research*, v. 42, p. 1057-63, 2003.

MARTÍNEZ, J. Extração de óleos voláteis e outros compostos com CO₂ supercrítico: desenvolvimento de uma metodologia de aumento de escala a partir da modelagem matemática do processo e avaliação dos extratos obtidos. Campinas: UNICAMP, 2005. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, J. M. Fitting the Sovová's supercritical fluid extraction model by means of global optimization tool. *Computers and Chemical Engineering*, v. 32, p. 1735-1745, 2008.

MARTINS, C. M.; AQUINO, F. J. T., Estudo da composição química e da atividade antioxidante de cafés (*Coffea arabica*) e de suas palhas provenientes do cerrado. Instituto de Química. Universidade Federal de Uberlândia. XII Seminário de iniciação Científica, 2008.

MAUL, A. A. Fluidos Supercríticos, situação atual e futuro da extração supercrítica. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v. 2(11), p.42-6, 1999.

MELECCHI, M. I. S. Caracterização química de extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: Estudo comparativo de métodos de extração. Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.*, v. 15, p. 127-30, 2001.

MEZZOMO, N. Óleo de amêndoa de pêssego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala. Florianópolis: UFSC, 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

MEZZOMO, N. MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 51, n. 1, p. 10-16, 2009.

MICHIELIN, E. M. Z. Obtenção de extrato de erva baleeira (*Cordia verbenacea* D.C.) por diferentes técnicas: medida da atividade biológica, modelagem matemática e determinação do equilíbrio de fases. Florianópolis: UFSC, 2009. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, v. 85, p. 231-237, 2004.

MORAIS, E. C.; STEFANUTO, A.; KLEIN, G. A.; BOAVENTURA, B. C. B.; ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; DI PIETRO, P. F.; MARASCHIN, M.; SILVA, E. L. Consumption of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Improves Serum Lipid Parameters in Healthy Dyslipidemic Subjects and Provides an Additional LDL-Cholesterol Reduction in Individuals on Statin Therapy. *Journal Agric. Food Chem*, v. 57, p. 8316-8324, 2009.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, v. 72, p. 145-171, 2001.

MUKHOPADHYAY, M. *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*: CRC Press, 2000.

NAIDU, M. M.; MURTHY, P. S. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food Bioprocess Technol.* Original paper, 2010.

NEHLIG, A.; BOYET, S. Dose response study of caffeine effects on cerebral functional activity with a specific focus on dependence. *Brain Research*, v. 858, p. 71-77, 2000.

NEHLIG, A.; DAVAL, J.; DEBRY, G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Research Reviews*, v. 17, p. 139- 170, 1992.

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

PEREDA, S.; BOTTINI, S. B.; BRIGNOLE, E. A. Fundamentals of Supercritical Fluids Technology. In: MARTÍNEZ, J. L. *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. CRC Press, 2008. cap 1, p. 1-21.

PEREIRA, C.; MEIRELES, M. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. *Food and Bioprocess Technology*, v. 3, n. 3, p. 340-372, 2010.

PERRUT, M. Supercritical Fluid Applications: Industrial development and economic issues. In: *Proceedings of the 2nd International Meeting on High Pressure Chemical Engineering, 2001, Hamburg, Germany, CD-ROM, 2000.*

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, v. 97, p. 137-50, 2006.

PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; MAURI, P. Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 11, p. 4487-4490, 1998.

POURMORTAZAVI, S. M.; HAJIMIRSADEGUI, S. H. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Jornal Chromatogr. A*, v. 1163, p. 2-24, 2007.

RAJALAKSMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: sources and methods of evaluation. In: *MADHAVI, D.L.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Food Antioxidants – technological, toxicological and health perspectives. New York: Marcel Dekker, p. 65-157, 1995.*

RATNAYAKE, W. M. N., HOLLYWOOD, R., O'GRADY, E., STAVRIC, B. Lipid content and composition of coffee brews prepared by different methods. *Food Chemistry Toxicology*, v. 31, p. 263-269, 1993.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 10, n. 1, p. 1-37, 1997.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, v. 92, p. 235-254, 2005.

ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical technology in Brazil: system investigated (1994–2003). *J. Supercrit. Fluids*, 34, (2005), 109–117.

ROSSI, J. A. J.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enol. Vitic.* v. 16, p. 144-58, 1965.

SALDAÑA, M. D. A. Extração de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico dos grãos de café com CO₂ supercrítico. Campinas, UNICAMP, 1997. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, 1997.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURACALIXTO, F. “In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter)”, *Food Chemistry*, Vol 90 No 1-2, pp. 133-139, 2005.

SANTOS, D. M. Desenvolvimento de método para obtenção de energia a partir da produção de biodiesel via extração de óleo de borra de pó de café em escala laboratorial. São Paulo, USP (2010). Dissertação (Mestrado em Ciências). Programa de interunidades de Pós-Graduação em Energia, Universidade de São Paulo, 2010.

SCALIA, S.; GIUFREDDA, L.; PALLADO, P. Analytical and preparative supercritical fluid extraction of Chamolile flowers and its comparison with conventional methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 21, p. 549-58, 1999.

SILVA, D. C. M. N. Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less). Florianópolis: UFSC, 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

SILVA, L. L. Análise fitoquímica e determinação das atividades antioxidantes e vasculogênica dos extratos aquosos padronizados de *coffea arabica e theobroma cacao*. Florianópolis: UFSC (2005). Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

SMÂNIA, A. Jr.; DELLE MONACHE, F.; SMÂNIA E. F. A.; GIL, M. L.; BENCHETRIT, L. C.; CRUZ, F. S. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *Journal Ethnopharmacol*, v. 45, n. 3, p. 177-181, 1995.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Sequestering Ability of Butylated Hydroxytoluene, Propyl Gallate, Resveratrol, and Vitamins C and E against ABTS, DPPH, and Hydroxyl Free Radicals in Chemical and Biological Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 10, p. 1077-1080, 2003

SOCOL, C. R., Resíduo de café: um substrato promissor para a produção industrial de bioprodutos com alto valor agregado. In: EMBRAPA-CAFÉ. (Org.). I SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. 1 ed. BRASÍLIA: EMBRAPA, v. 1, p. 83-98, 2002.

SOUSA, E.M.B.D., MARTÍNEZ, J., CHIAVONE-FILHO, O., ROSA, P.T.V., MEIRELES, M.A.A., Extraction of volatile oil from *Croton zehntneri Pax et Hoff* with pressurized CO₂: solubility, composition and kinetics, *Journal of Food Engineering*, v. 69, p. 325- 333, 2005.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂: I. Modelling of extraction curves. *Chemical Engineering Science*. v.49(3), p. 409-14, 1994.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. An Investigation of coffee roasting using high performance gel filtration chromatography, *Food Chemistry* 19 (1986) 1-9.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J.Chromatog. B*, v. 812, p. 85-99, 2004.

VALGAS, C.; SOUZA, S.M.; SMÂNIA, E.F. A.; SMÂNIA JR, A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, p. 370-380, 2007.

VEGRO, C. L. R.; CARVALHO, F. C. Disponibilidade e utilização de resíduos gerados no processamento agroindustrial do café. *Inf. Econ.*, v. 24, p. 9-16, 2006.

VIEIRA, G. R. T. Otimização das condições de cultivo de *Polyporus tricholoma* Mont. visando à produção de substâncias antibacterianas. Florianópolis: UFSC, 2005. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

VINATORU, M.; TOMA, M.; RADU, O.; FILIP, P. I.; LAZURCA, D.; MASON, T. J. The ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.4, p. 135-9, 1997.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 8, p. 303-13, 2001.

VINSON, J. A.; DABBAGH, Y. A. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutrition Research*, v. 18, p. 1067-1075, 1998.

WEINHOLD, T. S.; BRESCIANI, L. F. V.; TRIDAPALLI, C. W.; YUNES, R. A., HENSE, H., FERREIRA, S. R. S. *Polygala cyparissias* oleoresin: comparing CO₂ and classical organic solvent extractions. *Chemical Engineering and Processing*, v. 47, p.109-17, 2008.

YEN, W.; WANG, B.; CHANG, L.; DUH, P. Antioxidant properties of roasted coffee residues, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol 53, pp. 2658-2663, 2005.

ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.*, v. 49, p. 5165-70, 2001.

ZIAKOVA, A.; BRANDSTETEROVA, E. Application of different preparation techniques for extraction of phenolic antioxidants from lemon balm (*Melissa officinalis*) before HPLC analysis. *J. Liq. Chromatogr. R. T.*, v. 25, p. 3017-32, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE I : MODELOS MATEMÁTICOS

A1. MODELO DIFUSIONAL DE CRANK (1975)

O modelo de Crank (1975), apresentado por Reverchon (1997), considera a transferência de massa como uma analogia à transferência de calor. Assim, supõe que as substâncias a serem extraídas estão uniformemente distribuídas em partículas sólidas esféricas, que liberam o soluto no solvente supercrítico com o tempo, como um corpo quente perde calor para o meio. Este modelo é chamado difusional, pois considera que a transferência de massa se dá unicamente devido à difusão do soluto, contido no interior das partículas sólidas, para a fase supercrítica (REVERCHON, 1997).

Baseado na segunda Lei de Fick para difusão, e resolvendo analiticamente o balanço de massa na parte interna da partícula, a Equação A1 representa a massa de uma substância que se difunde através de uma partícula (MEZZOMO, 2008).

$$m_{ext} = m_0 \left[1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D t}{r^2}\right) \right] \quad (A1)$$

onde:

m_{ext} = massa de extrato (kg);

m_0 = massa inicial de soluto (kg);

t = tempo (min);

D = coeficiente de difusão, um parâmetro ajustável do modelo (m^2/min)

r = raio da partícula sólida (m);

n = número inteiro.

A2. MODELO DE SOVOVÁ (1994)

O modelo proposto por Sovová (1994) baseia-se em balanços de massa que consideram o escoamento axial do solvente com velocidade superficial através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica. Considera-se que na entrada do extrator o solvente está livre de soluto e a temperatura e a pressão são mantidas constantes. O tamanho das partículas e a distribuição do soluto no interior do sólido são considerados homogêneos e o soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular. Como resultado da moagem, as células localizadas na superfície das partículas são rompidas, tornando parte do soluto exposto ao solvente (MEZZOMO, 2008).

Neste modelo a transferência de massa interfacial ocorre de formas diferentes, dependendo da disponibilidade do soluto de fácil acesso ao solvente. Esta diferença se reflete no termo $J(X, Y)$ do balanço de massa, que representa o fluxo de transferência de massa interfacial.

O modelo de Sovová (1994) emprega o coeficiente de transferência de massa na fase fluida para descrever o período de taxa de extração constante (CER), e o coeficiente de transferência de massa na fase sólida para descrever a etapa na qual a resistência à transferência de massa é controlada pela difusão. Neste modelo, o perfil de concentração do soluto na fase fluida é dividido em três etapas:

a) a primeira etapa considera que o soluto de fácil acesso (X_p) disponível na superfície das partículas sólidas vai se esgotando ao longo do leito, chamada etapa CER, onde t_{CER} é o final da etapa de taxa de extração constante;

b) na segunda etapa o soluto de fácil acesso se esgota ao longo do leito, e inicia-se a extração do soluto de difícil acesso, chamada de etapa FER, na qual t_{FER} é o final da etapa de taxa de extração decrescente;

c) nesta etapa são retirados os solutos de difícil acesso (X_k) presentes no interior das partículas sólidas – denominada etapa difusional – sendo controlada pela resistência interna à transferência de massa.

A curva de extração obtida pelo modelo de Sovová (1994) é representada pelas Equações A2, A3 e A4, com a massa total de extrato obtida na saída do extrator, em função do tempo:

para $t \leq t_{CER}$:

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [1 - \exp(-Z)] t \quad (A2)$$

para $t_{CER} < t \leq t_{FER}$:

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [t - t_{CER} \exp(Z_w(t) - Z)] \quad (A3)$$

para $t > t_{FER}$:

$$\begin{aligned} m(h = H, t) = M_{SI} & \left[X_0 \right. \\ & - \frac{Y^*}{W} \ln \left\{ 1 \right. \\ & + \left[\exp \left(\frac{W X_0}{Y^*} \right) \right. \\ & \left. \left. - 1 \right] \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{M_{SI}} (t_{CER} - t) \right] \right\} \left(\frac{X_k}{X_0} \right) \end{aligned} \quad (A4)$$

onde:

$$Z_w = \frac{Z Y^*}{W X_0} \ln \left\{ \frac{X_0 \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{M_{SI}} (t - t_{CER}) \right] - X_k}{X_0 - X_k} \right\} \quad (A5)$$

$$Z = \frac{M_{SI} k_{ya} \rho}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon) \rho_s} \quad (A6)$$

$$W = \frac{M_{SI} k_{xa}}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon)} \quad (A7)$$

$$t_{CER} = \frac{M_{SI} X_p}{Q_{CO_2} Z Y^*} \quad (A8)$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{M_{SI}}{Q_{CO_2} W} \ln \frac{X_k + X_p \exp\left(\frac{W X_0}{Y^*}\right)}{X_0} \quad (A9)$$

h = coordenada axial (m);

H = comprimento total do leito (m);

t = tempo (s);

M_{SI} = massa de sólido inerte (kg);

X_0 = razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg);

X_k = razão mássica de soluto de difícil acesso (kg/kg);

X_p = razão mássica de soluto de fácil acesso (kg/kg);

Y^* = solubilidade do soluto no solvente (kg/kg);

Q_{CO_2} = vazão de solvente (CO_2) (kg/h).

ρ = massa específica do solvente (kg/m³).

ρ_s = massa específica da partícula sólida (kg/m³).

Nas equações do modelo de Sovová (1994) pode-se dizer que a quantidade Z , apresentada na Equação A6, é um parâmetro para a etapa CER porque essa quantidade (Z) é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa na fase fluida (k_{ya}) e este coeficiente controla a taxa de extração no período CER.

Para a resolução do modelo de Sovová (1994), é necessário conhecer alguns parâmetros: M_{CER} , taxa de extração na etapa CER (kg/min); Y_{CER} , razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER (kg_{Extrato}/kg_{CO2}); t_{CER} , duração da etapa CER (min) (CAMPOS, 2005). O parâmetro M_{CER} é o valor da tangente ao período CER e, a partir dele, obtêm-se o valor de Y_{CER} através da Equação A10.

$$Y_{CER} = \frac{M_{CER}}{Q_{CO_2}} \quad (A10)$$

Os parâmetros k_{xa} e k_{ya} são, respectivamente, os coeficientes de transferência de massa na fase sólida e na fase fluida (min⁻¹), e são definidos pelas Equações A11 a A15:

$$k_y a = \frac{M_{CER}}{\rho_{CO_2} S H \Delta Y} \quad (A11)$$

$$k_x a = \frac{k_y a \rho_{CO_2} \overline{\Delta Y}}{\rho_s \Delta X} \quad (\text{A12})$$

$$\Delta X = \frac{x_p + x_k}{2} \quad (\text{A13})$$

$$x_p = x_0 + x_k \quad (\text{A14})$$

$$\overline{\Delta Y} = \frac{Y_{CER}}{\ln\left(\frac{Y^*}{Y^* - Y_{CER}}\right)} \quad (\text{A15})$$

onde:

ΔY : média logarítmica para a razão mássica de soluto na fase fluida (kg/kg);

ΔX : média aritmética para a razão mássica de soluto na fase sólida (kg/kg).

A3. MODELO DE MARTÍNEZ et al. (2003).

O modelo de Martínez et al. (2003) é uma proposta para sistemas multicomponentes e pode ser aplicado considerando o extrato como um pseudocomponente ou uma mistura de substâncias ou grupos de componentes com estrutura química similar. O modelo negligencia o acúmulo e a dispersão na fase fluida devido a este fenômeno não apresentar influência significativa no processo quando comparado com o efeito de convecção.

Para um único grupo de componentes, a curva de extração obtida pelo modelo de Martínez et al. (2003) pode ser representada pela Equação A16.

$$m_{ext}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]} - 1 \right\} \quad (\text{A16})$$

onde:

h = coordenada axial (m);

H = comprimento total do leito (m);

t = tempo (s);

m_{ext} = massa de extrato (kg);

m_0 = massa de soluto inicial (kg);

b_i e t_{mi} são parâmetros ajustáveis do modelo (min^{-1} e min , respectivamente).

APÊNDICE II: DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO (TESTES PRELIMINARES).

Tabela 17: Tempos de extração, massas, massas acumuladas e rendimentos do experimento cinético para casca de café a 200 bar, 50 °C e 11 ± 2 g CO₂/min.

Tempo (min)	Massa (g)	Massa acumulada (g)	Rendimento (%)
5	0,0140	0,014	0,09
10	0,0086	0,0226	0,15
15	0,0089	0,0315	0,21
20	0,0133	0,0448	0,29
25	0,0126	0,0574	0,38
30	0,0131	0,0705	0,47
40	0,0142	0,0847	0,56
50	0,0148	0,0995	0,66
60	0,0658	0,1653	1,11
70	0,0096	0,1749	1,16
80	0,0129	0,1878	1,25
90	0,0014	0,1892	1,26
120	0,0121	0,2013	1,34
150	0,0474	0,2487	1,65
180	0,0243	0,273	1,82
210	0,0261	0,2991	1,99
240	0,0096	0,3087	2,05
300	0,0080	0,3167	2,11
360	0,0088	0,3255	2,17
420	0,0163	0,3418	2,27

Tabela 18: Tempos de extração, massas, massas acumuladas e rendimentos do experimento cinético para borra de café a 200 bar, 50 °C e 11 ± 2 g CO₂/min.

Tempo (min)	Massa (g)	Massa acumulada (g)	Rendimento (%)
5	0,0101	0,0101	0,06
10	0,0556	0,0657	0,43
15	0,1676	0,2333	1,55
20	0,1431	0,3764	2,50
25	0,1296	0,506	3,35
30	0,1373	0,6433	4,27
40	0,2764	0,9197	6,10
50	0,2183	1,138	7,55
60	0,0864	1,2244	8,12
70	0,0708	1,2952	8,60
80	0,0301	1,3253	8,81
90	0,0284	1,3537	8,98
120	0,0358	1,3895	9,22
150	0,0091	1,3986	9,28
180	0,0192	1,4178	9,41
210	0,0152	1,4330	9,51
240	0,0083	1,4413	9,56
300	0,0299	1,4712	9,76

APÊNDICE III: CURVAS DE CALIBRAÇÃO

CURVA PADRÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO

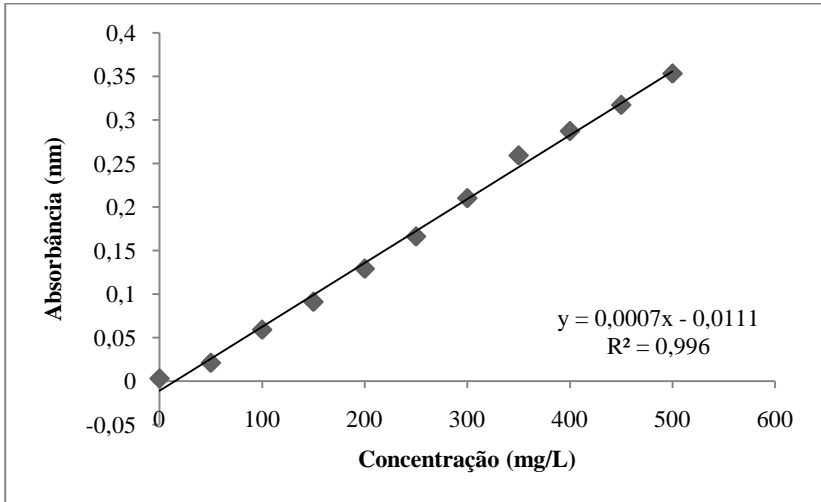


Figura 19: Curva padrão de ácido clorogênico utilizada no cálculo de TFT dos extratos de casca e de borra de café.

CURVA PADRÃO DE TROLOX

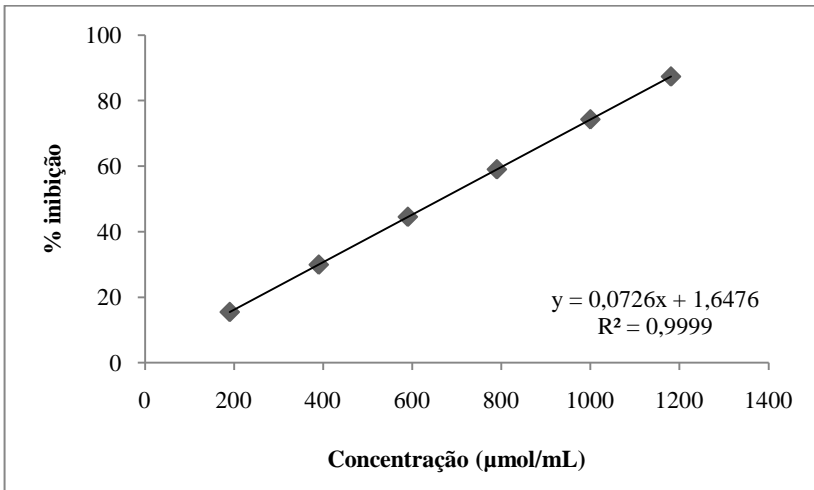


Figura 20: Curva padrão de Trolox utilizada na determinação de capacidade antioxidante dos extratos de casca e de borra de café.

APÊNDICE IV: MICROGRAFIAS (MEV)

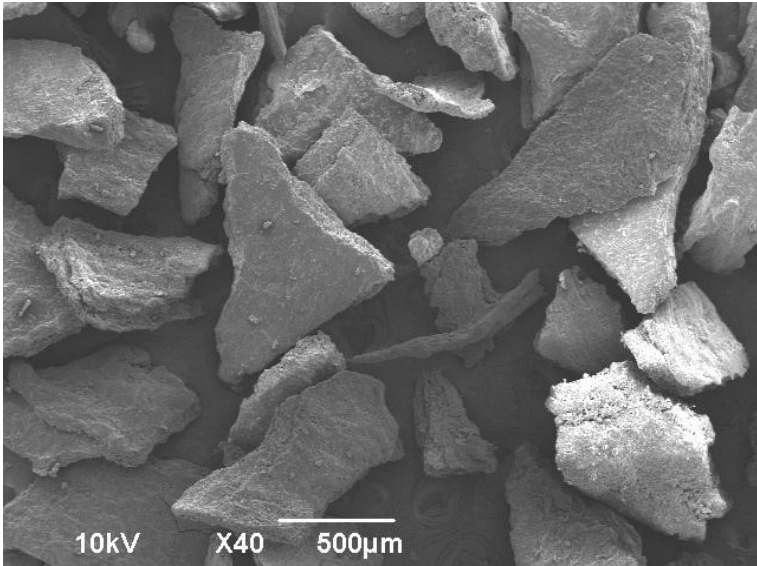


Figura 21: Micrografia obtida por MEV das partículas de casca de café, com aumento de 40x.

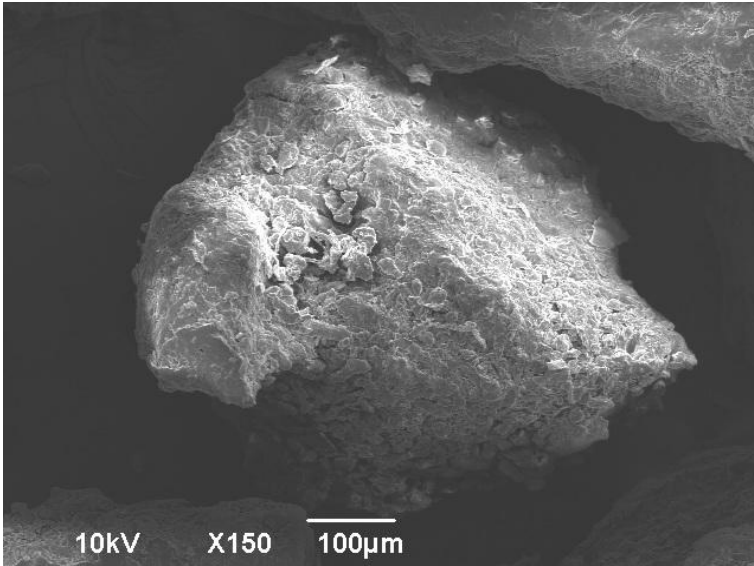


Figura 22: Detalhe de uma partícula de casca de café com aumento de 150x.

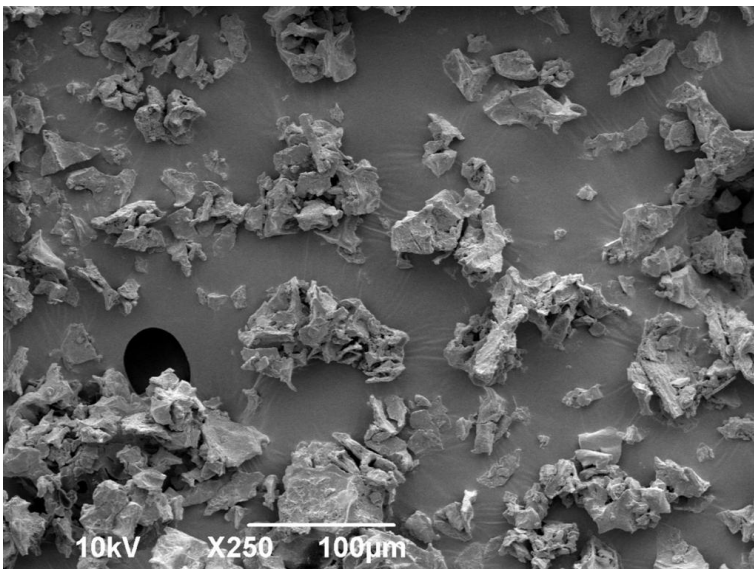


Figura 23: Micrografia obtida por MEV das partículas de borra de café, com aumento de 250x.

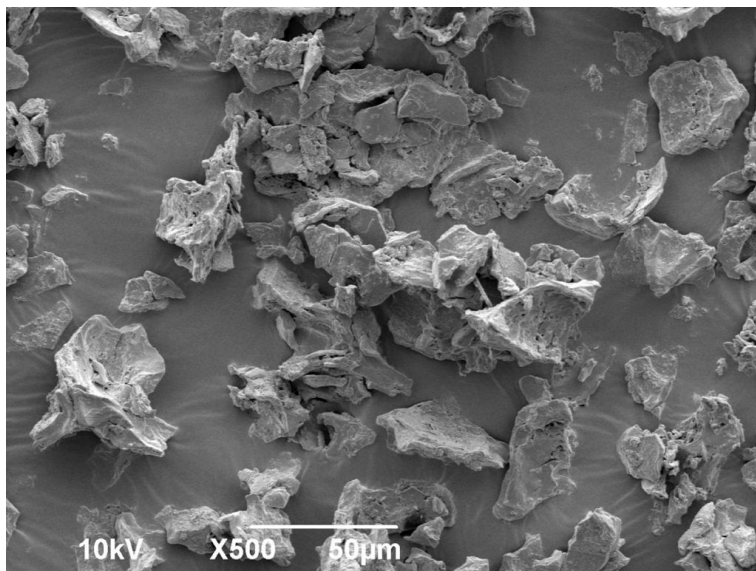


Figura 24: Micrografia obtida por MEV das partículas de borra de café, com aumento de 500x.

APÊNDICE V: CURVAS DE EXTRAÇÃO - DADOS EXPERIMENTAIS E MODELADOS.

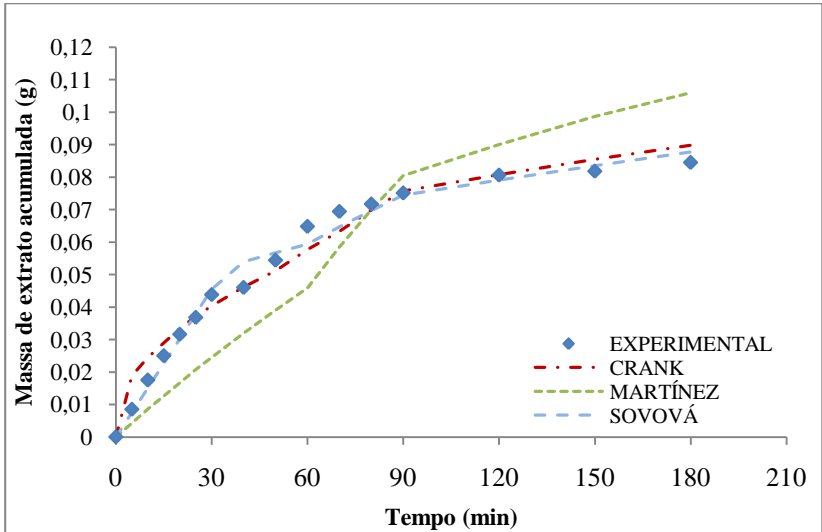


Figura 25: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,06cm e vazão de solvente de 11,6 g/min.

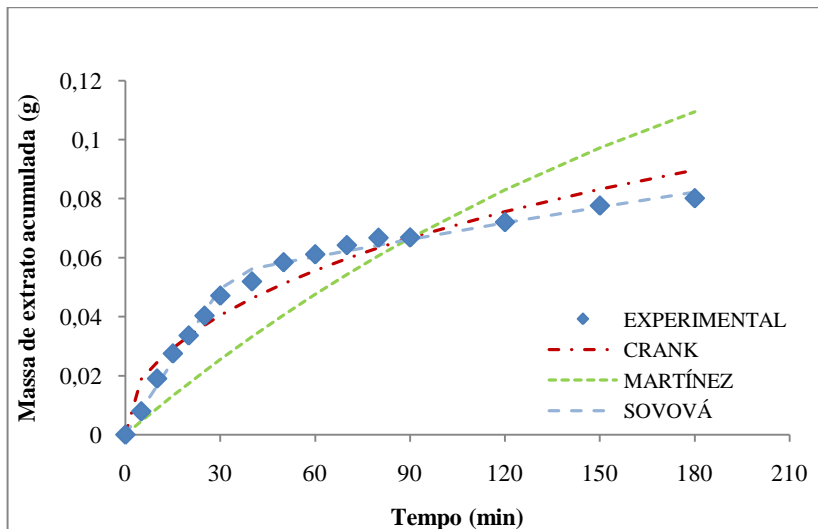


Figura 26: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,06cm e vazão de solvente de 6,6 g/min.

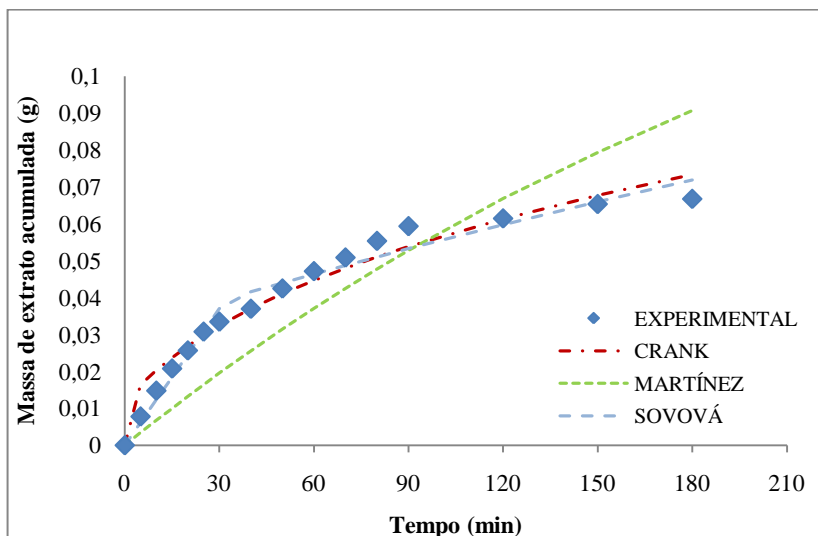


Figura 27: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,03cm e vazão de solvente de 16,6 g/min.

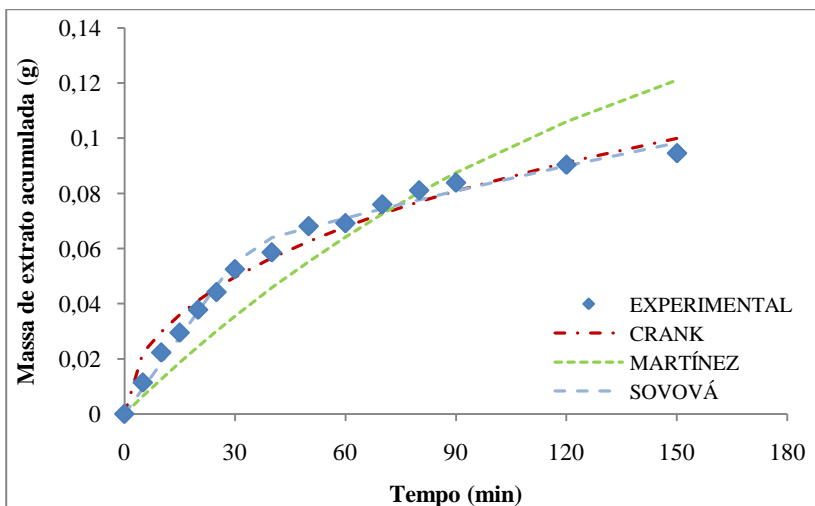


Figura 27: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,03cm e vazão de solvente de 6,6 g/min.

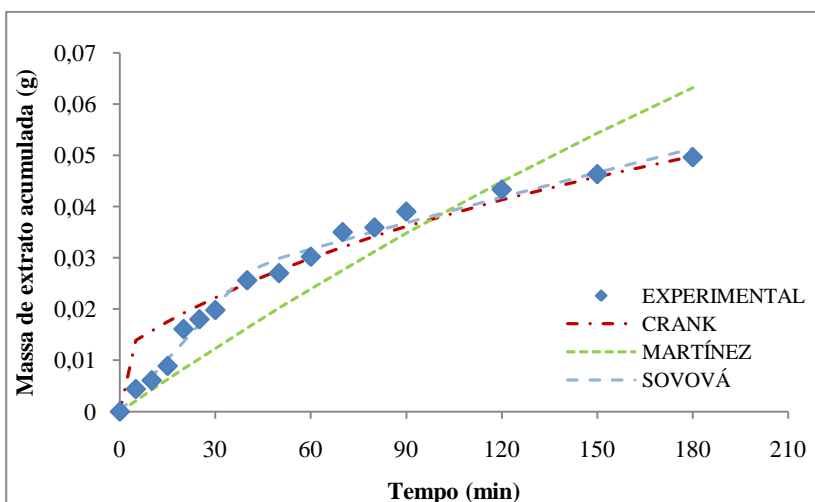


Figura 28: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,05cm e vazão de solvente de 16,6 g/min.

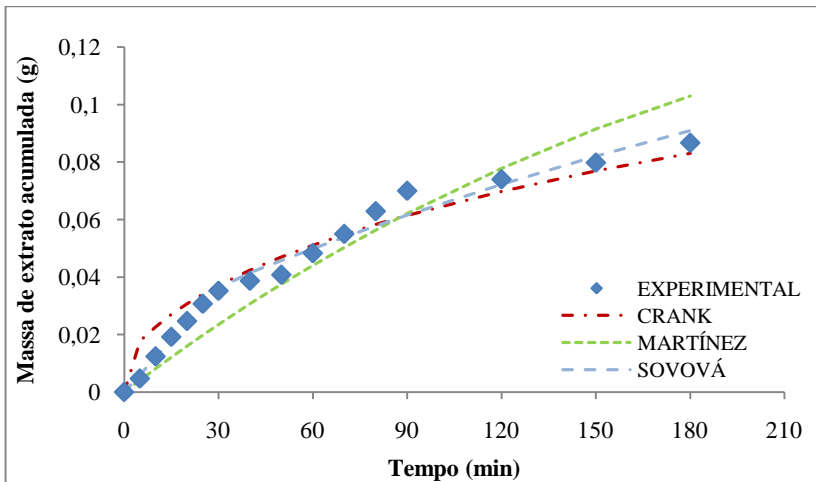


Figura 29: Curva de ESC de casca de café experimental e modelada a 100 bar, 40 ° C, empregando diâmetro de partícula de 0,05cm e vazão de solvente de 11,6 g/min.