

EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS DAS CASCAS DE CAFÉ

Fabiana Mayumi Saijo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Denise Silva de Aquino (Co-orientador), Camila da Silva (Orientador). E-mail: csilva@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologias, Umuarama, PR.

Ciência Agrárias/Engenharia de Alimentos

Palavras-chave: Ácidos fenólicos; Antioxidante; Viscozyme® L.

RESUMO

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de café, e gera resíduos significativos de cascas, ricas em metabólitos e ácidos fenólicos, conhecido por suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anticarcinogênicas. O objetivo deste trabalho foi obter extrato fitoquímico das cascas de café através da extração aquosa enzimática. Desta forma, a extração foi realizada com diferentes concentrações enzimáticas (1%, 3% e 5%), temperaturas (45°C, 50°C e 55°C) e tempos (20, 40, 60 minutos). A extração foi conduzida em frasco Erlenmeyer, ao qual foram adicionadas 1 g de casca de café e 20 mL de água destilada. O pH foi ajustado para 4,5 e foi adicionado a enzima Viscozyme® L. A enzima foi inativada a 90°C por 10 minutos e em seguida o meio de extração foi filtrado. A maior concentração de ácidos fenólicos ocorreu com a concentração enzimática de 1%, temperatura de 50 °C, e tempo de 60 minutos, obtendo a concentração de $46,71 \pm 0,78$ mg/g. As temperaturas de 45°C e 50°C mostraram-se mais estáveis e eficazes. O tempo de 60 minutos foi determinante, permitindo maior conversão de substrato e alcançando concentrações mais elevadas. Após a análise dos efeitos e aplicação da junção desejabilidade, foi possível determinar a condição de máxima extração em 45 °C, 60 minutos e 1% de enzima. Experimentos de validação realizados nessa condição obtiveram $47,27 \pm 0,47$ mg/g. Embora a adição de enzimas tenha mostrado melhorar o rendimento, a concentração de ácidos fenólicos foi apenas ligeiramente afetada.

INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de café e o segundo maior consumidor do produto (FAO, 2023). O café no Brasil é processado a seco, o qual gera como principal resíduo a casca obtida com um rendimento de

aproximadamente 50% do peso dos grãos de café (Setter et al. 2020). As cascas de café são caracterizadas por metabólitos, como cafeína e taninos, e ácidos fenólicos, como ácido clorogênico, sendo assim uma fonte para obtenção de compostos bioativos (Sisti et al., 2021). Um dos principais compostos bioativos presente no café e na sua casca é o ácido clorogênico. Esse composto apresenta atividades antioxidante, antimicrobiana e anticarcinogênica (Pimpley et al., 2021).

MATERIAIS E MÉTODOS

Em Erlenmeyer, foram adicionados 1 g da casca de café triturada e 20 mL de água destilada. Em seguida o pH foi ajustado para 4,5 e foi adicionada a enzima Viscozyme® L. Durante o período de extração, os frascos foram mantidos sob agitação de 180 rpm com a temperatura e o tempo previamente estabelecidos. Após a conclusão da extração, a enzima foi inativada a 90°C por 10 minutos e em seguida o meio de extração foi filtrado. O sobrenadante foi coletado e armazenado sob congelamento.

Para a determinação do teor de ácidos fenólicos totais, foram preparados em balões volumétricos as seguintes soluções: (A) solução aquosa (200 mL) contendo 1,66 mL de HCl e água Milli-Q; (B) solução aquosa (50 mL) contendo 5 g de Na₂MoO₄, 5 g de NaOH e 50 mL água Milli-Q; (C) solução aquosa (200 mL) contendo 0,8 g de NaOH e 200 mL de água Milli-Q. As amostras foram preparadas no escuro, no qual em tubos de ensaio e foram diluídos 0,5 mL da amostra para 1 mL de água. Em novos tubos de ensaio foram pipetados 0,2 mL da amostra diluída e adicionadas em sequência 2 mL da solução (A), 2 mL da solução (B) e 4 mL da solução (C), em seguida as soluções foram agitadas em vórtex e mantida em repouso em local escuro à temperatura ambiente durante 25 min. Após este período, foi realizada a leitura, em espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu, UV-1900) a 490 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração aquosa enzimática dos ácidos fenólicos totais da casca do café foi executada para a compreensão e avaliação das variáveis: concentração de enzima (% (m/m)), temperatura (°C) e tempo (min), de acordo com um planejamento experimental fatorial elaborado apresentado na Tabela 1. A partir dos dados apresentados nessa tabela, é possível observar que no experimento 7 obteve-se a maior concentração de ácidos fenólicos de 46,71 ± 0,78 mg/g. Observa-se que a concentração de ácidos fenólicos é maior com 1% de enzima, com pouca variação da concentração entre diferentes temperaturas e tempos, sendo a concentração enzimática de 5% a menos eficaz em comparação com as demais concentrações. A

temperatura de 45°C e 50°C apresentaram-se mais estáveis e eficazes, obtendo maior concentração em relação a 55°C, na qual ocorreu uma redução na eficiência da reação.

Tabela 1. Concentração de ácidos fenólicos totais obtidos em diferentes variáveis.

Experimento	Concentração enzimática (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Concentração (mg/g)
1	1	45	40	46,55 ± 0,30
2	5	45	40	41,24 ± 0,59
3	1	55	40	45,30 ± >0,01
4	5	55	40	44,62 ± 1,18
5	1	50	20	45,42 ± 0,30
6	5	50	20	45,03 ± 1,18
7	1	50	60	46,71 ± 0,78
8	5	50	60	45,09 ± 0,30
9	3	45	20	40,86 ± 0,30
10	3	55	20	44,80 ± 0,59
11	3	45	60	45,91 ± 0,29
12	3	55	60	45,35 ± >0,01
13	3	50	40	41,40 ± 0,24

Em relação ao tempo, nota-se que 60 minutos favorece a extração dos compostos fenólicos, o período prolongado permitiu que mais substrato fosse convertido, resultando em uma maior extração de ácidos fenólicos.

Após a análise dos efeitos e aplicação da junção desejabilidade, foi possível determinar a condição de máxima extração em 45 °C por 60 minutos e utilizando 1% de enzima. O valor predito para essa condição é de 48,44 mg/g. Experimentos de validação realizados nessa condição obtiveram 47,27 ± 0,47 mg/g. Esses resultados mostram que a consistência dos resultados valida o modelo proposto, indicando que, sob essas condições específicas, é possível obter altas concentrações de ácidos fenólicos.

Experimentos foram realizados a 45 °C por 60 minutos sem a adição de enzima no meio de extração, resultando em 45,15 ± 0,54 mg/g. Os dados obtidos mostram que não houve diferença significativa na eficiência da obtenção de ácidos fenólicos.

No entanto, a extração aquosa enzimática resultou em um rendimento de 41,60 ± 1,11%, sendo superior ao obtido pela extração sem enzima de 28,90 ± 0,46%. Essa diferença indica que a adição da enzima no processo de extração aumenta consideravelmente a eficiência na obtenção dos compostos desejados.

CONCLUSÕES

A concentração de ácidos fenólicos é mais alta com concentrações enzimáticas baixas, as temperaturas intermediárias e tempos mais longos favorecem a extração, oferecendo um equilíbrio ideal entre a atividade enzimática e a estabilidade da enzima.

A combinação da concentração enzimática de 1%, temperatura de 45 °C, e tempo de 60 minutos proporcionou a maior eficiência e rendimento no experimento. Essas observações ajudam a otimizar as condições para a extração de ácidos fenólicos em termos de eficiência e rendimento. Embora a adição de enzimas tenha mostrado melhorar o rendimento, a concentração de ácidos fenólicos foi apenas ligeiramente afetada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

FAO (2023) Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (acesso em 16/04/2023).

PIMPLEY, V. A.; MURTHY, P. S. Influence of green extraction techniques on green coffee: Nutraceutical compositions, antioxidant potential and in vitro bio-accessibility of phenolics. **Food Bioscience**, 43, 101284, 2021.

SETTER, C.; SILVA, F.T.M.; ASSIS, M.R.; ATAÍDE, C.H.; TRUGILHO, P.F.; OLIVEIRA, T.J.P. Slow pyrolysis of coffee husk briquettes: Characterization of the solid and liquid fractions. **Fuel**, 261, 116–127, 2020.

SISTI, L.; CELLI, A.; TOTARO, G.; CINELLI, P.; SIGNORI, F.; LAZZERI, A.; BIKAKI, M.; CORVINI, P.; FERRI, M.; TASSONI, A.; et al. Monomers, Materials and Energy from Coffee By-Products: A Review. **Sustainability** 2021, 13, 6921.